UNIVERSITÉ SCIENTIFIQUE ET MÉDICALE DE GRENOBLE

ANNÉE 1973 / N° D'ORDRE : 1

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU GENRE PROVIDENCIA

ÉTUDE BIOCHIMIQUE, LYSOTYPIQUE ET ANTIBIOTIQUE DE 160 SOUCHES HOSPITALIÈRES

THÈSE

présentée à l'Unité d'Enseignement et de Recherche
des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
de GRENOBLE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR EN PHARMACIE
DIPLOME D'UNIVERSITÉ

par

Monsieur CHOUTEAU Jacques
Ancien Interne en Pharmacie des Hôpitaux
Assistant des Facultés - Assistant des Hôpitaux
né le 26 janvier 1944 à GRENOBLE (38)

Cette thèse sera soutenue publiquement le 30 mars 1973 devant

A. BOUCHERLE, Président du Jury
R. SEIGNEURIN - J.-F. VIEU - J. BUISSIERE - J.-M. MULLER

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41534927_0051

UNIVERSITÉ SCIENTIFIQUE ET MÉDICALE DE GRENOBLE

ANNÉE 1973 / N° D'ORDRE : 1

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU GENRE PROVIDENCIA

ÉTUDE BIOCHIMIQUE, LYSOTYPIQUE ET ANTIBIOTIQUE DE 160 SOUCHES HOSPITALIÈRES

THÈSE

présentée à l'Unité d'Enseignement et de Recherche
des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
de GRENOBLE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR EN PHARMACIE
DIPLOME D'UNIVERSITÉ

par

Monsieur CHOUTEAU Jacques
Ancien Interne en Pharmacie des Hôpitaux
Assistant des Facultés - Assistant des Hôpitaux
né le 26 janvier 1944 à GRENOBLE (38)

Cette thèse sera soutenue publiquement le 30 mars 1973 devant

A. BOUCHERLE, Président du Jury
R. SEIGNEURIN - J.-F. VIEU - J. BUISSIERE - J.-M. MULLER

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MA GRAND-MERE

A MES PARENTS

A MA FEMME

A NOTRE FILLE

A MES BEAUX-PARENTS

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur A. BOUCHERLE

Professeur de Chimie Organique et Toxicologie

Directeur de l'Unité d'Enseignement et de Recherches des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques

Nous avons toujours apprécié lors de nos études la clarté de son enseignement magistral.

Nous le remercions d'avoir accepté la présidence du jury de notre thèse.

A Monsieur le Professeur R. SEIGNEURIN

Professeur de Microbiologie et d'Hygiène
Médecin Biologiste des Hôpitaux - Chef de Service
Directeur du Centre Départemental de Transfusion Sanguine de Grenoble

Sa constante bienveillance nous a permis d'accomplir notre travail dans son service hospitalier de Bactériologie-Virologie, en nous donnant tous les moyens nécessaires aux différentes études.

Qu'il veuille bien trouver ici nos respectueux remerciements et notre profonde reconnaissance pour l'intérêt et la confiance qu'il nous a toujours témoignés.

A NOS JUGES

Monsieur le Docteur J.F. VIEU

Directeur du Centre National Français de Lysotypie Entérique

Un trop bref passage dans son service à l'Institut Pasteur nous laisse le meilleur des souvenirs. Il a bien voulu nous fournir tous les éléments nécessaires à la réalisation d'une partie de notre travail et nous aider de précieux conseils.

Nous lui exprimons notre reconnaissance et nos remerciements pour avoir bien voulu accepter de juger notre travail.

Monsieur le Médecin en Chef de 2ème Classe J. BUSSIERES

Chef de la Section de Bactériologie Générale au Centre de Recherche du Service de Santé des Armées.

C'est à lui que nous devons la mise au point des méthodes qui ont permis la réalisation de l'étude biochimique fine. Il a su nous faire profiter lors de notre stage à l'Hôpital Desgenettes de toute l'étendue de ses connaissances et nous guider avec patience au cours de nos recherches.

Nous lui exprimons ici notre profonde reconnaissance et notre respectueuse amitié.

Monsieur le Professeur J.M. MULLER

Maître de Conférences Agrégé de Thérapeutique

Médecin des Hôpitaux - Chef de Service

Nous gardons un excellent souvenir du stage effectué dans son Service hospitalier lors de notre Internat. Il nous exposait avec clarté et précision les questions les plus ardues. Il a bien voulu accepter de juger notre travail. Nous l'en remercions vivement.

A TOUTES LES LABORANTINES DU LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE

Elles nous ont toujours offert leur aide précieuse et souriante.

Nous tenons à leur exprimer ici notre très sincère reconnaissance.

A MADEMOISELLE A.M. BISUEL

Laborantine au Service de Microbiologie du CRESSA.

A MONSIEUR P. MONTAGNON

Il a permis l'impression de cette thèse. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance.

A MADAME D. SEIGNEURIN

Son travail acharné et appliqué nous a permis de réaliser l'impression de notre thèse.

Nous tenons à lui exprimer nos remerciements très sincères.

"Si les conquêtes utiles à l'humanité touchent votre coeur... prenez intérêt à ces demeures sacrées qu'on désigne sous le nom expressif de laboratoires. Ce sont les temples de l'avenir, de la richesse, du bien-être. C'est là que l'humanité grandit, se fortifie et devient meilleure."

PASTEUR

INTRODUCTION

Le genre Proteus fut établi en 1885 par HAUSER mais le groupe Providence est d'origine plus récente quant à sa désignation. En effet, c'est en 1951 que KAUFFMANN (69) propose pour la première fois qu'Anaerogenic paracolon 29911, isolé en 1943 par STUART, WHEELER, RUSTIGIAN et ZIMMERMANN (136) qui furent les premiers à bien individualiser de tels germes, prenne le nom de "Providence". La découverte, tout au moins la mise à jour, de ces microbes date bien de cette époque. Une réserve doit être faite pour préserver la vérité chronologique des faits. En 1921, un microbiologiste allemand, ORNSTEIN (94), avait isolé un germe dont les caractéristiques biochimiques étaient relativement nouvelles. Ce même germe fut également décrit par BRAUN et LOWENSTEIN en 1923. ORNSTEIN lui avait donné le nom de *Bacillus Inconstans* et il semble bien que ce soit la première souche de Providence connue bien qu'elle le fut à postériori. Rendons donc à ORNSTEIN ce qui lui appartient car il paraît à l'heure actuelle certain qu'il est le "père de la Providence".

STUART et ses collaborateurs (136) décrivirent 23 souches isolées dans la ville américaine de Providence (Rhode Island) où travaillait STUART. Ces premières souches d'Entérobacteriaceae, non individualisées jusqu'alors, en attendant des études biochimiques approfondies, furent toutes réunies sous le vocable provisoire d'anaerogenic paracolon 29911. Il est à noter que STUART les considérait comme un facteur étiologique indiscutable de gastro-entérites.

En 1952, KAUFFMANN et EDWARDS (69) créent le genre Providence qui contient une seule espèce : Providencia Providenciae. A partir de

cette époque, on va ressortir de la littérature d'anciennes publications et rattacher à celui-ci toutes sortes de bactéries décrites précédemment et dont les caractères biochimiques (et parfois sérologiques) les rapprochent de ce nouveau genre.

Il faut citer :

- Bacillus inconstans appelé aussi Bacterium inconstans.
- Bacterium wakefield isolé et décrit en 1945 par BERGER (6) et qui le rapproche des Shigella (on retrouve dans certaines publications le nom de Shigella wakefield). STUART, WHEELER et MAC GANN (135) identifièrent ce germe à leur paracolon 29911 (en particulier par des études sérologiques). BRIDGES et TAYLOR (10) en 1956, concluaient que les souches "Wakefield" faisaient partie du nouveau groupe Paracolon et non du groupe Flexner des Shigella.
- Les bactéries B 81 et B 105 de SACHS (1943) (118) décrites comme de nouveaux types de bacilles ne fermentant pas le mannitol et responsables de gastro-entérites. Ce sont de véritables 29911 présentant les mêmes caractéristiques biochimiques et des réactions antigéniques croisées. WHEELER et STUART pensent qu'elles n'appartiennent pas au groupe des Shigella. Ces "Shigella" B 81 et B 105 se "rapprochent" des Shigella flexneri.

Plus tard, la position exacte de ces entérobactéries dans la systématique bactérienne fut longuement discutée.

C'est ainsi que successivement, elles ont été placées dans le groupe des Shigella (BERGER (6), EWING et GRAVATTI (55) qui, dans une étude sur les Shigella dans le pourtour méditerranéen, retrouvent des bactéries identiques aux types B 81 et B 105 de SACHS, MAC LENNAN (82), SACHS (118) et STONE (134) puis considérées comme intermédiaires entre Proteus et Shigella (STUART, WHEELER et MAC GANN (135), SINGER et BARCHAY (126)) ou entre Pseudomonas, Proteus et Alkalescens (GALTON, HESS et COLLINS (63) qui, en 1946, isolent 158 souches de 29911 de coprocultures de routine, PLASS (102) en 1947 qui, lors d'une épidémie de gastro-

entérites chez les enfants, trouve une prédominance de paracolon 29911. Elles furent parfois même rattachées aux Salmonella (DE SALLES GOMES (44)).

En 1949, BUTTIAUX, TACQUET et KESTELOOT (22) isolent les mêmes germes lors d'une épidémie de gastro-entérites chez les enfants (1,5 % des coprocultures).

Mais leur rapprochement avec la tribu des PROTEAE s'est rapidement imposé surtout grâce à un caractère particulier décrit en 1950 par HENRIKSEN (64). En effet, parmi les entérobactéries, seuls les Proteus (et les Providencia) ont la particularité de posséder un enzyme spécial : une désaminase capable de transformer la phénylalanine en acide pyruvique. A la lueur de ce fait nouveau, il paraît évident que les deux groupes (Proteus et Providence) sont intimement liés. Ce caractère particulier et fondamental a conduit de nombreux auteurs à reviser la position taxonomique du groupe Providence. En effet, en 1953, SINGER montra le premier que les Providencia possèdaient cet enzyme.

En 1953, KAUFFMANN (70) propose que les germes Providence qui paraissent très voisins du genre Rettgerella deviennent les constituants du genre Providencia dont il étudie l'année suivante les caractères biochimiques et antigéniques. Le groupe Providence apparaît donc comme une entité sous le nom de Providencia. La position de cet auteur, au sujet de la classification de la tribu des Proteae est la suivante : il distingue 4 genres :

1. Proteus avec deux espèces vulgaris et mirabilis
2. Morganella
3. Rettgerella
4. Providencia

Pendant cette même période, BUTTIAUX et ses collaborateurs (20-21) font une étude importante portant sur une centaine de souches de Providencia à la suite de laquelle ils souhaitent leur inclusion dans le genre Proteus et proposent de les appeler Proteus stuartii, en reconnaissant qu'ils ont des caractères biochimiques très voisins de Proteus rettgeri.

Le caractère fondamental (possession d'une phénylalanine désaminase) amènent SINGER et BAR-CHAY (126) aux mêmes conclusions que BUTTIAUX.

En 1955, PROOM (107) se basant sur certains caractères nutritionnels et sur la production d'amines volatiles, pense que Providencia et Proteus rettgeri devraient être exclus du genre Proteus et réunis tous les deux dans un genre nouveau. Ce travail de PROOM montre en particulier que Providencia constitue un groupe homogène très différent du groupe Proteus. Cependant, à cette époque, tout n'est pas connu suffisamment au sujet de la nutrition de Providencia pour donner à celle-ci une valeur taxonomique.

Cette opinion est loin d'être admise par tous et la même année, SHAW et CLARKE (125) en désaccord avec KAUFFMANN (70) sur la division du groupe Proteus recommandent à nouveau l'inclusion de Providencia au sein du genre Proteus et proposent le nom de Proteus inconstans qui serait donc une cinquième espèce de Proteus, reconnaissant que la première description d'une souche de Providencia est celle du Bacillus inconstans d'ORNSTEIN.

D'autres auteurs se rallient à cette idée, en particulier COWAN en 1956 (37) qui adopte lui aussi le terme de Proteus inconstans.

En 1957, PAPAVASSILIOU (95) propose également l'inclusion des Providencia dans le genre Proteus sous le nom de Proteus Providenciae. Cet auteur pense, en effet, que la classification des Proteus est très compliquée. Il propose ce nouveau nom au lieu des noms anciens de Proteus stuartii (BUTTIAUX) et Proteus inconstans (SHAW et CLARKE). Ce dernier nom semble, d'ailleurs, pour PAPAVASSILIOU le meilleur par priorité mais il estime que, puisque dans ce genre on aura encore beaucoup de changements, il est utile de conserver un nom qui rappelle le nom ancien de ce groupe.

En 1958, EWING (52) publie une importante étude sur ce sujet. Il reprend la nomenclature et la taxonomie des groupes Proteus et Providence, en fonction des suggestions et propositions apparues auparavant. Toutes les considérations antérieures aboutissent à une question : est-ce

que la classification actuelle des Proteus doit être maintenue ou le genre doit-il être divisé, et s'il l'est, comment envisager cette division ?

Il propose la classification suivante qui conserve au groupe Providence un statut particulier. Il reconnaît 2 genres et 5 séries :

Genre Proteus (*P. vulgaris*, *P. mirabilis*)
Genre Morganella (*M. morganii*, *M. rettgeri*, *M. inconstans*)

En 1956, KAUFFMANN (71) publie une importante étude sur les caractères biochimiques des constituants du genre Proteus en précisant les individualités de chacun et propose de classer les Proteus en 4 genres contenant chacun une espèce :

Proteus : *P. hauseri*
Morganella : *M. morganii*
Rettgerella : *R. rettgeri*
Providencia : *P. inconstans*

La position de EWING et EDWARDS, en 1960, est la suivante (57)

Division Proteus-Providence
Groupe Proteus *P. vulgaris*
P. mirabilis
P. morganii
P. rettgeri
Groupe Providencia

et celle de RAUSS en 1962 (111) réintègre Providencia au niveau du genre :

Tribu des Proteae
Genre Proteus Espèces *Proteus vulgaris*
Morganella *M. morganii*
Rettgerella *R. rettgeri*
Providencia *P. inconstans*

Toutes les classification apportent un élément positif mais ne sont pas valables en tant que telles, car à l'inverse, certains aspects

deviennent négatifs. En fait, devant une structure apparemment inextricable une solution moyenne devrait être adoptée. EWING propose la position suivante en 1962 (53) :

Tribu IV : Proteae (CASTELLANI et CHALMERS)
Genre I : Proteus (HAUSER)
Genre II : Providencia (KAUFFMANN - EDWARDS)
(Providencia alcalifaciens (DE SALLES GOMES) EWING
(Providencia stuartii (BUTTIAUX et coll.) EWING

Dans cette classification, les membres du groupe Providence apparaissent avec le statut d'entité et cela est nécessaire. Car, quelle que soit la classification adoptée, nous pensons qu'il est important de considérer le groupe Providence comme une entité séparée.

Position actuelle

Les membres du groupe Providence ont des ressemblances avec P. morganii et P. rettgeri. Cependant un caractère fondamental les différencie : les Providence n'hydrolysent pas l'urée.

Il est certain que les Providence diffèrent des deux autres espèces de Proteus (vulgaris et mirabilis) (absence de liquéfaction de la gélatine, absence de production d'H_2S). Pas d'essaimage en milieux gélosés encore qu'il puisse être obtenu dans certaines conditions.

Le groupe Providence est composé de 2 biogroupes : le premier ressemble à P. morganii et le deuxième à P. rettgeri.

Il est donc évident que les membres du Groupe Providence ressemblent à 2 espèces du groupe Proteus, mais diffèrent totalement des deux autres.

Rapports entre *Rettgerella* et *Providencia*

Les différences biochimiques sont peu importantes, mise à part l'hydrolyse de l'urée, et le fait que les Providencia fermentent rarement le mannitol et l'érytritol selon NAMIOKA (92); ce qui avait amené plusieurs auteurs à confondre les deux groupes en un seul (BUTTIAUX, SHAW et CLARKE, PROOM).

Selon NAMIOKA, il faudrait réunir les deux espèces en un seul

groupe selon la définition suivante :

GENRE RETTGERELLA	Hydrolyse de l'urée	L'érythritol
Rettgerella rettgeri	+	+ en 2 à 5 jours
Rettgerella Providenciae	+ ou - faiblement	-

De même les études sérologiques effectuées surtout par EWING, TANNER et DENNARD (54) auraient tendance à rapprocher Providencia du genre Morganella, de même que celles de NAMIOKA et SAKAZAKI (93) qui montrent que Providencia et Morganella sont les seules Entérobactéries à posséder un antigène K particulier (C antigen).

Par contre les études récentes faites sur la teneur en guanine + cytosine (GC %) de l'acide désoxyribonucléique des Providencia par FALKOW, RYMAN et WASHINGTON (58) et celles effectuées sur les bactériophages de ces bactéries par GOETZEE (33-34) et VIEU (143) conduisent plutôt à les éloigner du genre Morganella et à les rapprocher des autres Proteus, et en particulier de ceux du genre Rettgerella.

Encore plus récemment, LE MINOR (79) dans un travail portant sur la répartition de l'antigène de KUNIN (antigène commun des Enterobacteriaceae ou CA dans la famille des Enterobacteriaceae) aboutit aux résultats suivants : "L'inclusion des Proteus dans les Enterobacteriaceae soulève quelques réserves. Seule l'espèce Proteus morganii paraît bien à sa place dans cette famille. Le fait qu'il y ait chez P. vulgaris et P. mirabilis à la fois des souches CA (+) et des souches CA (-) pourrait résulter de la non appartenance de ces espèces à la famille des Enterobacteriaceae ou bien de l'hétérogénéité taxonomique de ces espèces ou encore de ces deux causes réunies".

Signalons toutefois que les 8 souches de Providencia testées (4 P. alcalifaciens et 4 P. stuartii) possédaient toutes l'antigène de KUNIN (CA +).

A travers l'historique de la tribu des Proteae, nous avons découvert toutes les controverses concernant la nomenclature et la taxonomie de cette tribu. Ces discussions concernent plus les taxonomistes que les bactériologistes cliniques.

Il nous paraît nécessaire de conserver au groupe Providencia un statut provisoire d'entité (en attendant des études plus approfondies du GC % de ces bactéries) ne serait-ce que par l'originalité clinique et bactériologique de ce groupe. Cette pensée guidera notre travail.

En conclusion, toutes les classifications apportent un élément positif, mais ne sont pas valables en tant que telles, car à l'inverse certains aspects demeurent négatifs. Elles sont un simple instrument de travail. En fait, devant une situation apparemment inextricable, une solution moyenne devrait être adoptée.

Les membres du groupe Providence doivent conserver un statut particulier, car quelle que soit la classification adoptée, nous pensons qu'il est important de considérer le groupe Providence comme une entité séparée.

CHAPITRE I

DÉFINITION DU GENRE PROVIDENCIA

Les différentes définitions du groupe Providencia furent souvent modifiées et corrigées pour la dernière fois en 1967 par EWING de la façon suivante :

"Le genre Providencia est composé de bactéries mobiles qui répondent à la définition de la famille des Proteae. Elles n'hydrolisent pas l'urée et ne produisent pas d'hydrogène sulfuré (H_2S). Elles produisent de l'indol et poussent sur milieu au citrate de Simmons. La gélatine n'est pas liquéfiée et on note l'absence des décarboxylases de la lysine, de l'arginine et de l'ornithine. Elles n'élaborent pas de lipase. A de très rares exceptions près, le mannitol n'est pas fermenté et elles ne forment pas d'acide à partir de l'alpha-méthyl-glucoside, de l'érythritol et de l'esculine. L'espèce type est *Providencia alcalifaciens* (De Salles Gomes) Ewing.

I. CARACTERISTIQUES ET REACTIONS BIOCHIMIQUES

Deux espèces sont reconnues à l'intérieur du genre Providencia : Providencia alcalifaciens et Providencia stuartii. La différenciation de ces deux espèces est basée sur la production de gaz à partir du glucose et sur l'utilisation de l'adonitol et de l'inositol.

Les souches de Providencia alcalifaciens forment une bulle de gaz à partir du glucose, fermentent en général l'adonitol et n'utilisent que rarement l'inositol. Par contre, les souches de Providencia stuartii sont anaérogènes, fermentent l'inositol et, en général, ne fermentent pas l'adonitol (sauf le biotype 6 qui est rare). On doit également noté l'intérêt du tréhalose pour la différenciation des deux espèces. Les réactions biochimiques données par 633 souches de P. alcalifaciens et 158

souches de P. stuartii sont résumées dans le tableau suivant :

Il est possible de décrire un très grand nombre de biotypes. Dans son étude fondamentale, EWING en reconnaissait 31 (54). Seuls six biotypes sont utiles pour une meilleure compréhension et une meilleure classification.

Espèces et biotypes	Gaz en glucose	Adonitol	Inositol	Fréquence
I/A Providencia alcalifaciens				
biotype I	+	+	-	++++++
2	-	+	-	++++
3	+	-	-	+
4	-	-	-	+
II/B Providencia stuartii				
biotype 5	-	-	-	++++
6	-	+	+	+

Ce tableau appelle quelques commentaires. En effet :

1. 80 % des souches appartiennent à l'espèce P. alcalifaciens et 20 % à l'autre espèce P. stuartii.

2. 86 % des P. alcalifaciens produisent du gaz.

DIAGNOSTIC BIOCHIMIQUE DIFFÉRENTIEL (Caractères généraux)

	Salmonella S.G. I	*Salmonella* S.G. III (*Arizona*)	*Citrobacter*	*Shigella*	*Escherichia*	*Klebsiella pneumoniae*	*Enterobacter* (*Aerobacter*)	*Erwinia*	*Serratia*	*Proteus*				*Providencia*	*Edwardsiella*	*Levinea*
										vulgaris	*mirabilis*	*morganii* (*Morganella*)	*rettgeri* (*Rettgerella*)			
Mobilité	+	+	+	—	+ ou —	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gaz en glucose	+	+	+	—	+	+	+	d	d	+	+	+	d	d	+	+
Lactose	—	+ ou ×	+ ou ×	—	+ ou ×	+	+ ou ×	d	— ou ×	—	—	—	—	—	—	(+)
β-galactosidase	—	+	+	d	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+
SH_2	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	+	—
Uréase	—	—	— (+)	—	—	(+)	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—
Ph. alanine DA et TDA	—	-	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—
Indole	—	—	—	d	+	—	—	—	—	+	—	+	+	+	+	+
L.D.C. (ninhydrine)	+	+	—	—	d	d	d	—	+	—	—	—	—	—	+	—
Citrate (Simmons)	+	+	+	—	—	+	+	+	+	d	d	—	+	+	—	+
Gélatine	—	(+)	—	—	—	—	d	+	+	+	+	—	—	—	—	d
Culture en KCN	—	—	+	—	—	+	+	d	+	+	+	+	+	+	—	d
Mannitol	+	+	+	d	+	+	+	+	+	—	—	—	+	d	—	+
Adonitol	—	—	—	—	—	+	d	—	d	—	—	—	+	d	—	d
Saccharose	—	—	d	—	d	+	+	d	+	+	×	d	d	d	—	d
Salicine	—	—	d	—	d	+	+	d	+	+	d	—	d	—	—	(+)
Inositol	d	—	— ou ×	—	—	+	d	—	d	—	—	—	+	d	—	—
Dulcitol	+	—	d	d	d	d	—	d	—	—	-	—	—	—	—	d
R.M.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
V.P.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	d	—	—	—	—	—
Malonate	—	+	—	—	—	+	d	d	—	—	—	—	—	—	—	d
TTR	+	+	+	—	—	—	—	—	d	+	+	+	+	+	+	d
ADH	— (+)	(+)	—	—	d	—	d	—	— (+)	—	-	—	—	—	—	—
ODC	d	+	—	d	d	—	+	—	+	—	+	+	—	—	+	+
Mucate	+	d	+	—	+	+	+	d	—	—	—	—	—	—	—	+

\+ = Positif en 1 ou 2 jours.
— = Négatif.
× = Tardivement et irrégulièrement positif (fermentation due à des mutants).

(+) = Positif tardivement.
d = Différents types biochimiques.
— (+) = en général — exceptionnellement positif tardivement.

LDC = lysine-décarboxylase
ADH = arginine dihydrolase
TDA = tryptophane désaminase

ODC = ornithine décarboxylase
DA = désaminase
TTR = tétrathionate réductase

RM = Rouge de méthyle
VP = Voges-Proskauer

Les caractères sont rangés dans l'ordre habituel de fréquence de leur recherche dans le diagnostic courant : c'est pour cette raison que la LDC, couramment recherchée, est séparée de l'ODC qui ne l'est qu'exceptionnellement en bactériologie clinique.

D'après Léon LE MINOR

LE DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE DES BACILLES A GRAM NEGATIF

ENTEROBACTERIES

Tome I - 4e Edition (1972) - Editions de la Tourelle

3. Seulement 2,5 % des souches de P. alcalifaciens ne fermentent ni l'adonitol, ni l'inositol, et elles sont aérogènes.

4. Seulement 2,7 % des souches de P. alcalifaciens ne sont pas aérogènes et ne fermentent ni l'adonitol, ni l'inositol.

5. Seulement 3,8 % des souches de P. stuartii fermentent à la fois l'adonitol et l'inositol (rareté du biotype 6).

II. STRUCTURE ANTIGENIQUE

Les méthodes employées pour les investigations sérologiques sont les mêmes que celles utilisées pour d'autres Entérobactéries comme E. coli par exemple. Une étude très complète de la question fut faite en 1954 par EWING et ses collaborateurs (54).

On peut distinguer chez les Providencia les groupes antigéniques suivants :

A. Antigènes somatiques

Antigène O : l'antigène somatique O est thermostable et résiste à l'alcool. EWING a classé 62 groupes O. Les fréquences d'isolement sont différentes. Le groupe O_3 (15 % des souches) semble le plus fréquent, puis viennent les sérotypes 23, 9, 21, 4 et 19. Ces six groupes O regroupent environ 40 % des souches.

Antigènes K : (tableau, page 15)

a) qui en général masquent l'antigène O et rendent la bactérie inagglutinable. En particulier dans le groupe O_{25} une souche possédait une capsule distincte à partir de laquelle il fut possible de préparer un antisérum. Cet antisérum et différents tests permirent à EWING de l'identifier à un antigène L de la classification de KAUFFMANN. EWING décrit 2 groupes d'antigènes K (K_1 et K_2).

b) antigène α : certaines entérobactéries et spécialement les Providencia contiennent un antigène particulier, l'antigène α. STAMP et STONE ont constaté sa présence dans les groupes 014, 015 et 046. Cet

TABLEAU

Antigènes K	Propriétés physico-chimiques				Spécificité d'1 groupe O
	Titre d'agglutination	Conservation des propriétés agglutinantes		Empêche l'agglutination O	
		100° C 1 heure	121° C 2 heures		
L	bas	-	-	+	-
B	bas	+	-	+	+
C	élevé	+	-	+	+
α	élevé	-	-	-	-
β	élevé	-	-	-	-

Propriétés physico-chimiques des antigènes K des Providencia

antigène somatique est détruit par chauffage de 15 minutes à 100° C et par action de l'alcool. Ces recherches furent confirmées par de nombreux auteurs dont FRANCIS, BACKLAND (qui pensent qu'il est assez voisin de certains facteurs K des coliformes), BRIDGES et TAYLOR (10), KAUFFMANN (70).

c) antigène β : de la même manière MUSHIN mit en évidence un antigène β dont on rencontre les anticorps naturels chez l'homme et le lapin. Il n'empêche pas l'agglutination O.

d) antigène C (NAMIOKA) (93) : cet auteur a décrit un nouvel antigène K différent des antigènes α et β. Il existe de nombreux types d'antigènes C spécifiques d'un groupe O à la manière des antigènes B d'E. coli.

B. Antigènes flagellaires H

EWING a identifié 30 antigènes flagellaires H différents qui sont thermolabiles et monophasiques. Ils apparaissent lentement.

Au total, la combinaison des antigènes O et H permet de dégager à l'heure actuelle 175 types de Providencia dont le plus fréquent est le type O_3H_3.

Au point de vue sérologique, les Entérobacteriaceae possèdent une "mosaïque" plus ou moins complexe d'antigènes entraînant des relations croisées entre les différents genres et espèces ; ces relations peuvent s'étendre à d'autres familles. Les Providencia n'échappent pas à cette règle.

C. Relations antigéniques croisées

a) avec les membres de la Tribu des Proteae :

Il est certain qu'une étude sérologique poussée de la tribu des Proteae s'impose. Cependant, on connaît déjà des relations antigéniques croisées entre Providencia et Proteus rettgeri (NAMIOKA). En réalisant des épreuves d'agglutination croisée en tube sur tous les antigènes O et H connus des Providencia et des Rettgerella, NAMIOKA a montré qu'aucune

réaction significative n'est constatée entre la majorité des antigènes O et la totalité des antigènes H. Cependant, les antigènes O 2a et O 2b des Rettgerella agglutinent fortement dans l'antisérum 017 des Providencia et la réaction réciproque est également positive.

De la même manière, des relations furent trouvées avec Proteus morganii et les autres Proteus (mirabilis et vulgaris).

b) avec les autres entérobactéries :

EWING, en 1956, insiste sur le fait qu'il existe des relations antigéniques, parfois mineures, entre le groupe des Coli et Providencia (exemple : Providencia O_6 et E. Coli O_{55}). La première observation d'une telle communauté fut faite par FRANTZEN en 1950.

De même il existe des relations avec Salmonella O_{50} et Arizona O_9 (DE MEUTER (42)), ainsi que certains antigènes O des Citrobacter et les types O_{57} et O_{43} des Salmonella. Nous avons vu le long cheminement de la taxonomie exacte des Providencia et la confusion biochimique possible avec le groupe des Shigella. Il existe, en effet, des relations croisées entre S. boydii 5 et Providencia O_{47}, S. boydii 6 et Providencia O_{41} et S. dysenteriae 3 et Providencia O_{37}.

CHAPITRE II

ÉTUDE BIOCHIMIQUE

I. MATERIEL ET METHODES

On désigne sous le nom de méthodes conventionnelles ou *méthodes classiques*, les méthodes biochimiques d'identification qui sont recommandées par les Comités de Taxonomie et qui sont habituellement utilisées pour identifier les bactéries de la famille des Enterobacteriaceae.

On désigne par microméthodes, les méthodes normalisées qui font application du principe de classement des caractères biochimiques décrit par Buissière.

Toutes les méthodes sont utilisées comme sources d'informations : les méthodes classiques servent à identifier les souches et à constituer l'échantillonnage, c'est-à-dire que le nom donné à une souche est toujours déduit de l'emploi exclusif des méthodes classiques. Sur ces mêmes souches, les microméthodes sont utilisées ensuite comme source supplémentaire d'informations.

A. Les souches

Il est nécessaire de réaliser un échantillonnage de souches aussi complet que possible. Pour ce faire, nous avons rassemblé des souches provenant de lieux géographiques différents (région lyonnaise et région grenobloise), et dans la mesure du possible de prélèvements très différents (excepté les selles).

Ainsi il semble possible de rassembler sinon la totalité des biotypes existant, du moins la majeure partie et tenter de dégager les biotypes les plus importants.

L'échantillonnage de référence comprend des souches provenant de :

- l'hôpital Desgenettes (Lyon) : 88
- l'hôpital Henri Gabrielle (Lyon) : 9
- l'hôpital de Grenoble : 63

La réalisation de cet échantillonnage a été réalisée grâce à

une méthode normalisée sur 20 caractères (pour séparer les Providencia des autres Entérobactéries).

On trouve, dans le tableau ci-contre, l'origine des souches.

ORIGINE DES SOUCHES (Ensemble de l'échantillon)

Urines	61
Sécrétions bronchiques	52
Hémocultures	3
Nez artificiel	2
Liquide pleural	1
Cathéter endo-veineux	4
Pus de verge	1
Liquide dialyse péritonéale	4
Pus abdominal	4
Drain de Redon	1
Pus dentaire	1
Sonde vésicale	1
Pus d'origine inconnue (plaies-sérosités-escarres...)	21

Les souches ont été isolées à partir des urines sur milieu B.C.P. et à partir des autres prélèvements, en particulier les sécrétions trachéales sur milieu trypticase soy agar, sinon sur gélose au sang ou directement sur un milieu d'isolement pour entérobactéries après mise en culture dans un bouillon nutritif (exemple : cathéter, sonde, etc...).

B. Les méthodes classiques

La plupart des taxonomistes souhaitent que les méthodes d'identification se normalisent et que leur mise en oeuvre soit réalisée de façon systématique.

Leur souhait se trouve réalisé pour l'identification et la classification des Enterobacteriaceae.

Il est des épreuves connues depuis très longtemps et que l'on a pris l'habitude de désigner par le nom de l'auteur qui les a décrites : citrate de Simmons, citrate de Christensen, urée de Ferguson, milieu de Kligler-Hajna. De telles épreuves sont à l'heure actuelle standardisées et leur mise en oeuvre exige de suivre un protocole d'utilisation précis.

Cependant, il n'en est pas de même pour toutes les épreuves d'identification des Enterobacteriaceae utilisées quotidiennement. Des épreuves destinées à la recherche d'un même caractère ont été souvent modifiées dans un but de simplification (exemple : recherche de la tryptophane-désaminase : la T.D.A.). Il en est de même pour la recherche des différentes décarboxylases (lysine décarboxylase : méthode de Carlquist, méthode de Moeller, méthode de Taylor), ornithine décarboxylase, etc...

En général, on se réfère aux indications données par le Sous Comité International pour les Enterobacteriaceae. Ces méthodes doivent être complétées par la mise en oeuvre de techniques plus récentes telles que la recherche de la β-galactosidase (LE MINOR et BEN HAMIDA).

On se réfère, pour la mise en oeuvre de l'ensemble des méthodes, au livre de LE MINOR (édition 1972) : le Diagnostic de laboratoire des Entérobactéries ; ou au livre de EDWARDS et EWING (édition 1972) "Identification of Enterobacteriaceae".

C. Les microméthodes

BUISSIERE et NARDON (17) ont montré que les microméthodes permettaient d'augmenter le nombre d'informations sur les caractères biochimiques des bactéries non pas en raison de la miniaturisation qui n'est un avantage que d'ordre matériel, mais parce que toutes les conditions expérimentales restant identiques, on peut comparer les caractères biochimiques des souches, d'une espèce ou de plusieurs espèces selon deux critères :

- l'un *qualitatif* est la conséquence de l'étude systématique. Il consiste à énumérer le nombre et la nature des caractères qui sont constamment positifs, constamment négatifs ou variables.

- l'autre *quantitatif* est la conséquence de la normalisation et de conditions expérimentales identiques ; il consiste à enregistrer la rapidité d'apparition et l'intensité de tous les caractères positifs.

Le nombre d'informations est notablement accru puisque pour toutes les souches on tient compte de tous les résultats. On classe ces résultats en trois catégories de caractères comptant chacune des caractères négatifs, le nombre et la nature des caractères variables. De plus, on donne une note ou on représente par une courbe la rapidité d'apparition des caractères positifs. En appliquant ce classement à des souches de Escherichia Coli de la colibacillose du veau, Buissière en collaboration avec Cottereau et de Saint Aubert, ont constaté que pour Escherichia Coli, le nombre et la nature des caractères biochimiques de chaque catégorie sont limités et bien déterminés, chaque catégorie servant à définir l'espèce, y compris les caractères variants.

De même, la rapidité d'apparition des caractères positifs contribue à définir l'espèce et il est possible de donner une représentation graphique de toutes les informations par un diagramme formant la silhouette d'une souche ou d'une espèce. Ce sont les silhouettes qui font l'objet d'une comparaison.

II. RECHERCHE DES CARACTERES BIOCHIMIQUES

A partir d'une seule colonie prélevée sur le milieu d'isolement, on fait le diagnostic biochimique de routine sur le matériel API système 20 Enterobacteriaceae. A partir de cette même colonie remise en culture, on fait le diagnostic du biotype en milieu au $KClO_3$.

A. DIAGNOSTIC DE ROUTINE SUR API 20 ENTEROBACTERIACEAE

1. Principe

Ce matériel comporte 20 microtubes d'Ivan Hall modifiés et définis dans leur forme et leurs dimensions par BUISSIERE (16). Nous avons nous-mêmes avec BARTOLI (3) défini la manière qui nous paraît la plus rigoureuse pour utiliser ces galeries.

On doit évidemment faire un bon isolement, prélever une seule colonie et faire une suspension ne contenant qu'une seule colonie. Bien entendu, on fait autant de suspensions qu'il y a de colonies à identifier.

Il nous est apparu que le plus commode était de prélever la colonie avec une pipette Pasteur ouverte et flambée, de faire la suspension dans l'eau distillée et de se servir de la même pipette pour inoculer les galeries API et faire l'antibiogramme. On procède donc de la manière suivante :

- une colonie est prélevée et mise en suspension dans 5 ml d'eau distillée stérile.

A partir de cette suspension :

- on fait un examen morphologique et un Gram.
- on ensemence une gélose nutritive inclinée pour conserver la souche et effectuer les épreuves ultérieures.
- on inocule une galerie API 20 E.
- on fait l'antibiogramme de présomption sur gélose par la méthode des disques.

Cette manière de procéder est la seule qui assure que les résultats de l'identification et de l'antibiogramme concernent bien la même souche. Ce point est capital car ainsi que nous le montrerons plus loin, un malade peut héberger en des localisations différentes des souches de la même espèce qui n'ont pas le même antibiogramme.

2. Résultats

Toutes les souches isolées sur API 20 E ont un aspect strictement identique correspondant au diagnostic de *Providencia stuartii*,

c'est-à-dire *inositol positif*. Le caractère saccharose est parfois faiblement positif.

Le profil du schéma type est le suivant (page 25).

5. citrate : +
8. T.D.A. : +
9. Indole : +
12. Glucose : +
14. Inositol : +
17. Saccharose : $\pm$

Cette séquence de caractères est suffisante pour affirmer le diagnostic de Providencia et si l'on s'en tient aux définitions actuelles, affirmer le diagnostic de la variété *Providencia stuartii*.

De plus on recherche dans le caractère glucose, la réduction du nitrate de potassium en nitrite par la réaction de Griess. Cette réaction est parfois négative et sert à l'interprétation de la présence ou de l'absence des nitrates réductases A et B.

B. RECHERCHE DES BIOTYPES

1. Matériel et méthodes

En utilisant le matériel API 50 Enterobacteriaceae qui permet l'étude systématique de l'attaque de 39 glucides (glucides, alcools, hétérosides, polyosides...) on a constaté que toutes les souches isolées avaient un comportement très voisin et que seuls, deux glucides (Adonitol et Saccharose) permettaient de décrire des biotypes.

Mais c'est la présence ou l'absence de la nitratase A qui permet de décrire deux grands biotypes de *Providencia stuartii*. On recherche donc :

- la présence ou l'absence des nitrate-réductases A et B par la méthode simplifiée de Pichinoty (98).
- les modalités de la croissance des souches en présence de glucides et en milieu au $KClO_3$ sur API 50, ce qui permet d'appré-

ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H_2S	URE	TDA	IND	VP
				+			+	+	

GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NIT
	+		+			±					

DIAGNOSTIC
Brûlures à la miction Providencia Stuartii

MOIS	JOUR	NATURE	IDENTITÉ	SERVICE	HOPITAL
2	14	Urines	D..... J.Pierre	REA	GRENOBLE

CODE

api 20 E

CARTE Nº 03009

cier dans une même épreuve à la fois la croissance en présence de $KClO_3$ et les biotypes d'après les glucides utilisés. Dans ce travail, les résultats de la méthode de Pichinoty ont toujours été mis en parallèle avec les résultats sur API 50 E.

2. Culture des souches

A partir de la suspension dans 5 ml d'eau distillée on a ensemencé un tube de gélose nutritive inclinée. Le lendemain, on vérifie que cette culture est pure d'après les résultats API 20 E qui doivent être en accord avec les caractères différentiels de l'espèce.

A partir de la culture de 24 heures sur gélose inclinée :

on prépare une suspension dense dans 2 ml d'eau distillée stérile avec laquelle

- on inocule un tube de 5 ml de bouillon nutritif qui est placé à l'étuve pendant 2 ou 3 heures et qui sert à inoculer les 2 tubes de la méthode de Pichinoty.
- on inocule un tube de milieu de suspension au ClO_3K et qui sert à rechercher les caractères sur la plaque API 50.

3. Recherche des nitrate-réductases par la méthode de Pichinoty

Par la méthode simplifiée de Pichinoty, le tableau suivant donne la probabilité de la présence ou de l'absence des nitrate-réductases A, B et A et B.

Croissance en CLO_3	Réaction des NO_2	Probabilité
négative	-	Absence de A
	+	Présence de A ou Présence de A + B
positive	-	Absence de A et de B ou trous de B
	+	Présence de B

a) Mode opératoire :

La réaction des nitrites est recherchée sur les galéries API 20 E dans le tube contenant du glucose et du nitrate de potassium par le réactif de Griess.

Une réaction positive doit être *rouge brique* en quelques secondes.

Une réaction négative est jaune, parfois devient rose, mais très pâle en quelques minutes.

b) Recherche de la croissance en présence de chlorate de potassium :

Milieux :

- Bouillon glucosé au nitrate (recherche des nitrites)

Bouillon nutritif Difco.....	8 g
Glucose.....	2 g
KNO_3.....	5 g
Eau distillée.....	1 000 ml

Répartir à raison de 10 ml par tube et stériliser à 110° C.

- Milieu solide sans chlorate (témoin)

Agar nutritif Difco.....	23 g
Glucose.....	2 g
Eau distillée.....	1 000 ml

Répartir en tubes étroits (diamètre : 8 mm ; longueur : 180 ou 225 mm) à raison de 5 ml par tube. Stériliser à 110° C.

- Milieu solide avec chlorate

Agar nutritif Difco.....	23 g
Glucose.....	2 g
$KCLO_3$.....	1 g
Eau distillée.....	1 000 ml

Répartir en tubes étroits (diamètre : 8 mm ; longueur 180 ou 255 mm) à raison de 5 ml par tube. Stériliser à 110° C.

Protocole :

A partir de la culture en gélose inclinée on prélève une ou deux anses pleines que l'on met en suspension dans le bouillon nutritif et on laisse incuber pendant 2 heures à l'étuve à 37° C. A partir de cette suspension très dense et en phase de croissance, on ensemence :

- un tube de gélose profonde témoin.
- un tube de gélose profonde sur $KClO_3$.

Avec les Providencia qui sont par définition des bactéries anaérobies facultatives et fermentatives, la lecture des résultats a conduit à deux éventualités :

- croissance anaérobie en $KClO_3$ comparable au témoin.
- absence de croissance anaérobie en $KClO_3$ mais seulement croissance en surface. Très souvent, en anaérobiose, on note seulement la croissance de quelques petites colonies (variants chlorate - réductase négatif).

D'après le tableau précédent, on a classé les Providencia en 3 groupes :

- présence d'une nitrate réductase A
- présence d'une nitrate réductase B
- absence de nitrate réductase A et B quand les nitrates ne sont pas réduits en nitrites.

4. Détermination des biotypes en milieu au $KClO_3$

a) Matériel :

On utilise le matériel API 50 Enterobacteriaceae. Chaque tube contient un produit chimique pur et en quantité précise (glucides, alcools, hétérosides, acides aminés, etc.) dont on désire étudier les effets sur la croissance.

Pour l'étude des croissances des Providencia en présence de ces différents substrats et en présence de $KClO_3$, on met à profit la forme et les dimensions très précises des tubes des plaques API.

Ce sont des microtubes qui fonctionnent comme les tubes de Ivan Hall comptant une zone de croissance en aérobiose et une zone de croissance en anaérobiose. BUISSIERE (16) en a défini la forme et les dimensions d'après le coefficient de diffusion de l'oxygène dans l'eau.

L'existence de zones de développement en aérobiose et en anaérobiose peut être mise à profit pour rechercher en même temps la présence ou l'absence d'une nitratase A et observer le métabolisme des substrats en fonction de la croissance.

b) Méthode :

A partir de la culture de 24 H sur gélose inclinée, on prépare une suspension très dense de bactéries dans 1 ou 2 ml d'eau distillée. Avec cette suspension dense, on ensemence un milieu gélose chloraté de façon à obtenir une suspension pas trop dense mais seulement visible par une très légère opalescence. L'expérience a montré que s'agissant d'un milieu de culture, cette estimation à vue de l'opacité est suffisante.

c) Milieu :

NaCl.....	9	g
$MgSO_4$, 7 H_2O.....	0,05	g
$FeSO_4$.....	0,025	g
K_2HPO_4.....	0,1	g
Extrait de levure BD.....	0,5	g
$KClO_3$.....	1	g
Agar.....	7	g
Eau distillée.....	1 000	ml

Après ébullition, le milieu est ajusté à pH 7,6, réparti en tube de 10 ml et autoclavé à 115° C pendant 20 minutes.

Au moment de l'emploi, le milieu est fondu au bain-marie puis maintenu en suspension à 40° C, il est ensemencé avec quelques gouttes de la suspension dense de bactéries dans l'eau distillée et immédiatement inoculé dans les tubes en évitant la gélification.

d) Inoculation des tubes :

Avec le milieu gélose chloraté ensemencé, on remplit les tubes et les cupules des 40 premiers caractères des plaques API 50 E. Les 10 derniers caractères 40 à 49, servent de contrôle ou sont inoculés avec une suspension faible en eau distillée.

Liste des substrats (plaque API 50 E)

N°	Substrats	N°	Substrats
0	Rouge de Phénol	25	Esculine
1	Glycérol	26	Salicine
2	Erythritol	27	d (+) cellobiose
3	d (-) arabinose	28	Maltose
4	l (+) arabinose	29	Lactose
5	Ribose	30	d (+) mélibiose
6	d (+) xylose	31	Saccharose
7	l (-) xylose	32	d (-) tréhalose
8	Adonitol	33	Inuline
9	Méthyl-xyloside	34	d (+) mélézitose
10	Galactose	35	d (+) raffinose
11	d (+) glucose	36	Dextrine
12	d (-) levulose	37	Amylose
13	d (+) mannose	38	Amidon
14	L (-) sorbose	39	Glycogène
15	Rhamnose	40	O.N.P.G.
16	Dulcitol	41	Arginine
17	Méso-inositol	42	Lysine
18	Mannitol	43	Ornithine
19	Sorbitol	44	Citrate de sodium
20	Méthyl-d-mannoside	45	Thiosulfate-fer
21	Méthyl-d-glucoside	46	Urée
22	N-acétyl-glucosamine	47	Tryptophanne
23	Amygdaline	48	Tryptophanne peptone
24	Arbutine	49	Acide pyruvique

e) Interprétation :

Cas des souches présentant une nitratase A :

Ainsi que l'a montré PICHINOTY (98) les bactéries pourvues d'activité chlorate réductase due à l'enzyme A ne se développent pas dans

la zone d'anaérobiose, mais se développent en présence d'oxygène dans la zone d'aérobiose. Pichinoty explique cette différence de comportement par le fait que la molécule de chlorate semble dépourvue de toxicité mais que les produits chlorés (ClO_2^-, Cl_2...) formés sous l'influence de la nitrate réductase A ont un effet léthal qui empêche la croissance en absence d'oxygène. En revanche, en présence d'oxygène dans la zone d'aérobiose, les bactéries se développent parce que l'oxygène inhibe le fonctionnement et la biosynthèse de la nitrate réductase A.

Dans les tubes d'IVAN HALL on constate alors que, bien que les Providencia soient des bactéries aéro-anaérobies facultatives et fermentatives, la formation d'acides à partir des glucides ne s'effectue que dans la zone d'aérobiose, c'est-à-dire dans la cupule des microtubes de BUISSIERE en présence de ClO_3K.

Cas des souches ne présentant pas de nitrate réductase A :

Les bactéries aéro-anaérobies comme Providencia mais dépourvues de nitrate réductase A ou pourvues seulement de la nitrate réductase B, se développent aussi bien en anaérobiose qu'en aérobiose puisqu'elles sont incapables de réduire le chlorate (ClO_3^-).

Les souches de Providencia dépourvues de nitrate réductase A forment des acides en anaérobiose à partir des glucides et même par un métabolisme fermentaire avec une plus grande intensité qu'en aérobiose. (voir profil, page 35).

Dans les conditions expérimentales choisies, cette acidification apparaît dès la 3ème heure donnant au profil des acidifications un aspect très différent de celui des souches pourvues de l'enzyme A.

5. Lecture du métabolisme des glucides

Pour ces caractères on adopte une lecture quantifiée des résultats. Cette quantification est rendue possible par la normalisation des conditions expérimentales. Le matériel est normalisé, le tube a toujours

la même forme et le même volume, la quantité de produit chimique qu'il contient est strictement mesurée et on utilise un même milieu de suspension. Le nombre de bactéries contenu dans le milieu de suspension est lui difficile à mesurer et à normaliser, mais s'agissant d'un milieu où se développent les bactéries qui, comme les Providencia, ont un taux de croissance rapide, une erreur sur le nombre de bactéries, même du simple au double, est une erreur relative de faible incidence sur une expérimentation qui dure 24 heures. PAULE (96) dans sa thèse, a étudié avec le même matériel la croissance bactérienne des lactobacilles et a montré que la quantification d'une mesure de croissance directement par opacité ou indirectement par la mesure d'un phénomène biologique en relation avec le nombre des bactéries est reproductible.

Sur le plan pratique, la quantification dans l'appréciation d'un phénomène biologique est un moyen d'augmenter le nombre d'informations apportées par une même épreuve, quelle que soit la nature de cette épreuve ; BARBE (2) a quantifié la rapidité des réactions enzymatiques, PAULE (96) a quantifié la rapidité d'une croissance et FOUGERAT (61) a quantifié la consommation d'oxygène par des mycobactéries.

JACQ (66) a codifié la quantification des épreuves par des notes de 1 à 5 aussi bien dans des épreuves psychotechniques que dans des épreuves microbiologiques.

Sur les 40 tubes correspondant aux glucides, on fait 4 lectures après 3 heures, après 6 heures, après 24 heures et après 48 heures.

A chaque lecture, on donne une note de l'intensité des caractères apparus. Dans tous les cas, cette note va de 0 à 5. On donne la note 0 aux réactions négatives et 5 aux réactions positives d'intensité maximale. Les notes intermédiaires sont des notes d'intensité croissante et on convient de donner la note 3 à une réaction faible mais incontestable. L'expérience montre que le plus important est de donner l'heure d'apparition de la note 3, ce qui entraîne sur les profils le noircissement de la case correspondante.

A partir des glucides, on lit la formation d'acides étant entendu que cette formation est parallèle à la croissance.

L'indicateur de pH est le rouge de phénol dont le changement de teinte peut être apprécié par une note :

Croissance nulle	pH 7,4 - 7,6	aucune acidification	note 0
	pH 7,2 - 7,4	début d'acidification	note 1
	pH 7,0 - 7,2	doute positif	note 2
	pH 6,8 - 7,0	positif faible mais incontestable	note 3
	pH 6,6 - 7,0	positif	note 4
	au dessous de pH 6,6	acidification complète	note 5

Dans la méthode utilisée en milieu gélosé sur $KClO_3$ il y a lieu de remarquer que l'acidification observée est une mesure strictement parallèle à la croissance en présence d'oxygène. Elle ne peut se manifester que lorsque les bactéries se développent :

soit en aérobiose et en anaérobiose : type B (absence de A) : tube et cupule
soit en aérobiose seulement : type A : cupule seule

On fait donc une lecture à la fois dans la cupule et dans le tube.

- Si l'acidification n'a lieu que dans la cupule, on partage la case de la feuille de lecture en deux parties et note l'acidification dans la partie supérieure de la case. La case sera noircie lorsque l'acidification aura eu lieu dans le tube (voir schéma, page 35).

- Si l'acidification a lieu dans la cupule et dans le tube, on porte le chiffre d'intensité de l'acidification 1, 2, 3, 4 et 5, et à partir de la note 3 on noircit la case (voir schéma, page 35).

Cette notation permet de faire en 6 heures la distinction entre :

1. les souches possédant une nitratase A : acidification seulement dans la cupule par inhibition de la nitratase par l'oxygène atmosphérique.
   cupule : jaune
   tube : rouge

2. les souches ne possédant pas de nitratase A (type B) : acidification à la fois dans la cupule et le tube.
   cupule : jaune
   tube : jaune

De plus, on enregistre la nature du glucide acidifié.

a) Enregistrement des résultats :

A chaque lecture, l'enregistrement est très facile et rapide. Sur des fiches prévues à cet effet, on n'enregistre que les résultats positifs. Ces fiches sont divisées en colonnes verticales portant le numéro des caractères, les colonnes sont divisées horizontalement par des lignes indiquant l'heure des lectures (voir schéma, page 35).

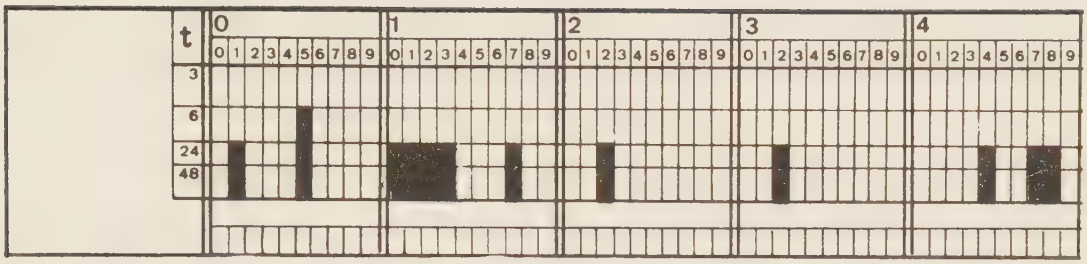
b) Transformation de la fiche de résultats en profil :

Le schéma montre la lecture d'une souche de *Providencia stuartii* possédant une nitratase A et une souche de *Providencia stuartii* ne possédant pas de nitratase A.

Les cases n'étant noircies que lorsque l'acidification est apparue dans le tube, on constate que la souche possédant une nitratase A et celle qui n'en possède pas forment des acides à partir des mêmes glucides mais que ces acidifications ne sont apparues qu'après 24 heures pour la souche possédant une nitratase A, c'est-à-dire lorsque l'oxygène atmosphérique a atteint le fond du tube.

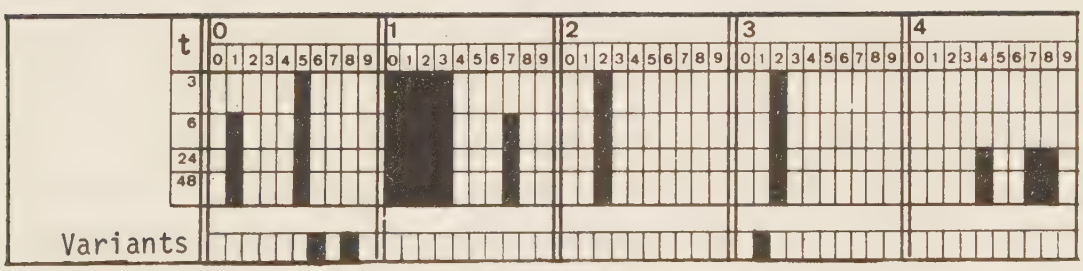
Les caractères 40 à 49 sont la répétition des caractères obtenus à l'isolement sur la galerie API 20 E de Providencia étudiés. On doit noter de plus que pour toutes les souches, ces caractères sont les mêmes et les caractères positifs ne sont lus qu'après 24 heures d'incubation.

Citrate +, Indole +, TDA +, VP-



PROVIDENCIA STUARTII

Présence de Nitratase A



PROVIDENCIA STUARTII

Présence de Nitratase B

C. COMMENTAIRES

Si l'épidémie n'est pas due à un seul biotype il semble exister, comme certains auteurs le pensent, une prédilection du sous-groupe B de Providencia pour les urines et les autres prélèvements, alors que Providencia alcalifaciens prédomine dans les selles (Cf. statistique du service du Professeur LE MINOR, page 37).

Toutes les souches isolées dans les produits pathologiques sont des souches inositol positif et devraient être appelées Providencia stuartii si l'on se réfère aux définitions d'EWING.

La recherche des nitrate-réductases A et B apporte matière à discussion. Cependant, en raison de la relative imperfection de la technique simplifiée de PICHINOTY, il n'est pas possible de conclure à l'absence de l'enzyme B lorsqu'on trouve seulement l'enzyme A chez une bactérie.

PICHINOTY (99) trouve que la nitrate-réductase B est la plus répandue parmi les Enterobacteriaceae et la nitrate-réductase A a été trouvée en particulier dans le sous-groupe A des Providencia (P. alcalifaciens). Ce fait constitue pour l'auteur un moyen supplémentaire de différenciations entre les deux sous-groupes en plus de la production de gaz, la fermentation de l'inositol et de l'adonitol. D'après cet auteur, la recherche des nitrate-réductases présente donc un grand intérêt. Les résultats confirment l'individualité de deux sous-groupes de Providencia et renforcent l'étroite parenté qui lie les Rettgerella et les biotypes du sous-groupe B des Providencia, en particulier le biotype 6.

Notre étude porte uniquement sur des souches de Providencia stuartii et nous avons mis en évidence la présence de l'enzyme B dans une grande proportion chez ces bactéries.

	Urines	Autres prélèvements
Absence de A	1	0
Présence de A ou A + B	5	29
Absence de A ou traces de B	5	2
Présence de B	51	37

STATISTIQUE DU LABORATOIRE DES ENTEROBACTERIES

(Institut Pasteur - Professeur LE MINOR)

Nature des prélèvements	Nombre de souches	Sous/Groupe A	Sous/Groupe B
Coprocultures	110	94	16
Viandes	5	4	1
Hemocultures	6	0	6
Urines	34	4	30
Pus (otite)	4	0	4
Pus (abcès du foie)	4	0	4
Pus (abcès)	2	0	2
Liquide céphalo-rachidien	1	0	1
Liquide pleural	1	0	1
Prélèvement vaginal	1	0	1
Tubage duodénal	1	1	0
Origine inconnue	20	10	10
TOTAL	189	113	76
Coprocultures	110	94	16
Autres prélèvements	79	20	59

La recherche des nitrate-réductases A et B ne constitue donc pas un critère taxonomique entre les deux sous-groupes de Providencia.

Nos résultats sont en contradiction avec les conclusions de PICHINOTY (99) et RICHARD (113), ce qui tient probablement à l'origine différente des prélèvements.

Toutes nos souches sont isolées de produits pathologiques chez des malades traités, et toutes nos souches répondent à la définition de Providencia stuartii (inositol positif) selon EWING qu'elles possèdent la nitrate-réductase A ou la nitrate-réductase B.

En conclusion, si l'on s'en tient aux caractères biochimiques donnés par la méthode API 20, on ne décrit que des Providencia stuartii et si l'on s'en tient à la méthode de PICHINOTY, elles se répartissent en deux groupes principaux en fonction de la présence ou l'absence des enzymes A et B.

Les souches de collection de l'espèce type (Providencia alcalifaciens) sont trouvées inositol négatif par la méthode API 20 mais il nous est apparu que certaines souches de Providencia stuartii ne formaient d'acide à partir de l'inositol que très lentement ce qui pouvait en faire des souches intermédiaires. Mais en reprenant ces souches inositol lent par la méthode en milieu chlorate décrite, on s'aperçoit qu'elles sont en réalité inositol positif sans discussion. Ceci tient probablement à ce que le métabolisme de l'inositol est un métabolisme de type oxydatif pour ces souches de façon préférentielle et non pas de type fermentatif car le chlorate inhibe partiellement la fermentation. Ces deux souches possèdaient une nitrate-réductase A.

Ce qui prouve que avec la méthode API 20 on ne peut pas "oublier" les souches de Providencia alcalifaciens, qui sont d'ailleurs franchement inositol négatif par la méthode API 50.

Autrement dit, la différence entre Providencia alcalifaciens et Providencia stuartii en ce qui concerne la formation d'acide à partir de l'inositol est certainement un phénomène biochimique complexe probablement lié aux modalités respiratoires de la bactérie, car Providencia alcalifaciens ne forme pas d'acide à partir de l'inositol mais

l'utilise comme substrat énergétique.

Sans empiéter sur le chapître de l'antibiogramme, il est bon de signaler ici qu'un même individu peut être trouvé porteur de l'espèce P. stuartii dans les urines et dans les bronches, ces deux souches ne présentant pas la même nitrate-réductase ni le même spectre antibiotique.

Il est inutile de rapporter tous les profils biochimiques obtenus par la méthode API 50. En effet, toutes les souches étudiées avaient un profil identique à l'exception de trois caractères variants, à savoir le saccharose (qui parfois fermente lentement par la méthode API 20), l'adonitol et la xylose.

- *Biotype adonitol + (Biotype 6 d'EWING)*

EWING détermine le biotype 6 de Providencia d'après l'acidification de l'adonitol. Nous avons isolé 11 souches de ce biotype sur 160 souches, ce qui confirme sa rareté. Il est à signaler que ces souches provenaient exclusivement d'urines.

- *Biotype xylose +*

Il appartenait au biotype 5 d'EWING. Ce biotype est extrêmement rare (3 souches dans notre étude isolées chez le même malade). RICHARD (113) en signale 1 souche également du biotype 5.

- *Biotype saccharose +*

La formation d'acide à partir du saccharose revêt une apparence quantitative. Le saccharose serait fréquemment acidifié mais très lentement, certaines souches le fermentant plus rapidement que d'autres. Les lectures de plaques API 50 n'excèdent pas 48 heures ; il n'est pas impossible que, si on avait recherché la fermentation du saccharose pendant plusieurs jours, les souches saccharose + auraient été plus nombreuses. En effet, selon RICHARD, environ 80 % des souches attaquent le saccharose tardivement. Dans notre étude 12 souches le fermentent en 48 heures.

D'autre part signalons que la recherche de la décarboxylase de l'acide glutamique n'apporte pas d'arguments supplémentaires (100 %

des souches positives). La recherche de la tétrathionate-réductase par la méthode simplifiée de LE MINOR (78) est très souvent positive ; seulement 2 souches échappaient à cette règle.

D'autre part, la recherche de la réduction des nitrates en nitrites à l'aide du réactif de Griess révèle 7 souches (correspondant à 3 malades) nitrites négatif grâce au test confirmatif de Zo-Bell.

D. INTERET EPIDEMIOLOGIQUE DES BIOTYPES

On trouve donc au total 6 caractères variants :

l'adonitol
le saccharose
le xylose
les nitrate-réductases A et B
la réduction des nitrates en nitrites

1. Au cours de la première partie de notre expérimentation, il a manqué une "note" épidémiologique à l'étude biochimique mais une étude détaillée à l'hôpital de Grenoble a permis de suivre des malades par des prélèvements répétés.

Certaines souches présentent un caractère biochimique rare, celui-ci peut servir de repérage (absence de réduction des nitrates, fermentation du xylose par exemple).

Ainsi le malade MOR... porteur d'une souche de Providencia stuartii dans les urines (biotype xylose +) a été suivi malgré de fréquents changements de service grâce à ce caractère biochimique particulier.

2. Cependant, un même malade a été trouvé porteur de plusieurs biotypes successivement, ce qui prouve l'infection mixte à Providencia avec sélection de biotypes probablement due à la thérapeutique antibiotique.

Ainsi très souvent on isole chez des malades soumis à une réa-

nimation instrumentale deux biotypes qui différent par la présence de nitrate-réductase A ou B et par leur antibiogramme (isolement de Providencia stuartii nitrate-réductase A dans les bronches et P. stuartii nitrate-réductase B dans les urines).

Par exemple, chez le malade BEY... dix jours après trachéotomie on trouve en plus d'un Pseudomonas un Providencia de type B dans les bronches et dans les urines un P. stuartii de type A ainsi qu'un Pseudomonas dont le biotype était d'ailleurs aussi différent de celui trouvé dans les bronches (nous faisons figurer les profils ci-après, page 42).

On remarque que le Providencia et le Pseudomonas des bronches est plus sensible aux pénicillines semi-synthétiques que dans les urines où ils sont trouvés résistants.

En conclusion, la méthode API 20 telle que nous l'avons décrite avec BARTOLI (3) rend le diagnostic de Providencia stuartii très facile en pratique courante.

La surveillance d'un malade hospitalisé et contaminé exige des prélèvements fréquents pour suivre l'apparition d'une nouvelle espèce et d'un nouveau biotype contaminant.

La surveillance chez un même malade de toutes les localisations (puisqu'il peut héberger des biotypes qui différent) permet d'apporter la thérapeutique à la localisation où le biotype est le plus résistant.

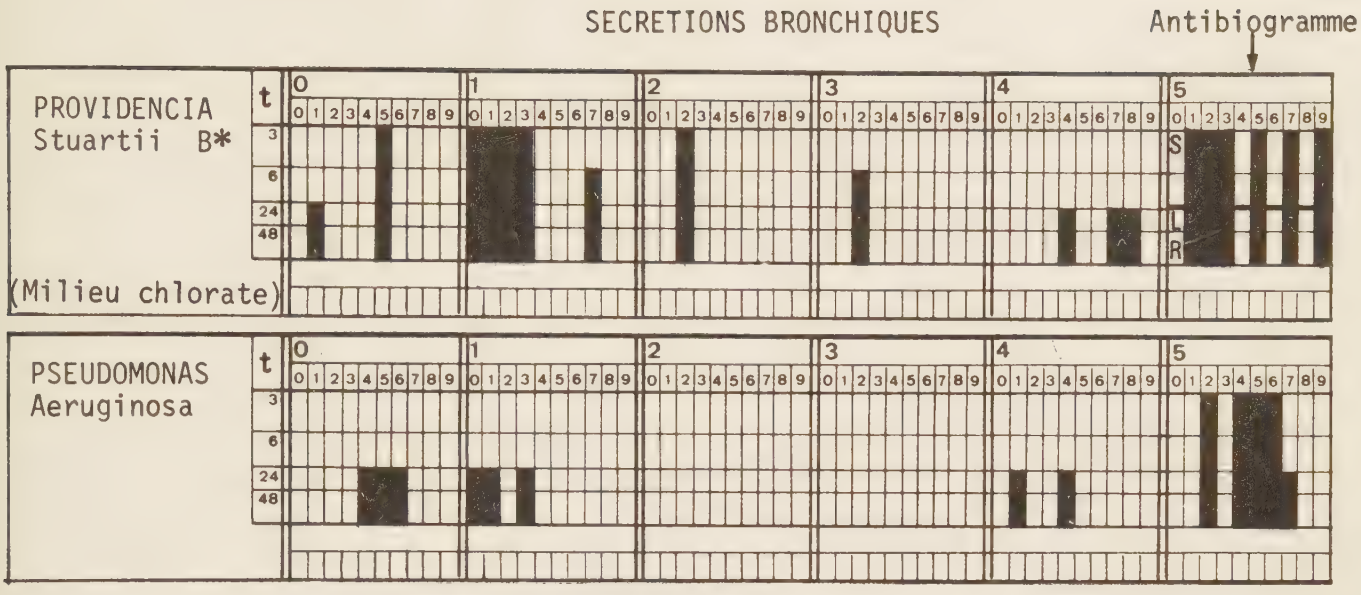
N.B.: Il est possible de faire figurer sur le même schéma le biotype et l'antibiotype.

Pour cela, on utilise le même quadrillage. On noircit toute la case si la bactérie est sensible, jusqu'à la ligne 24 si elle est intermédiaire, et on ne met rien si elle est résistante. Cette méthode graphique permet de mieux visualiser l'évolution parallèle des biotypes et des antibiotypes.

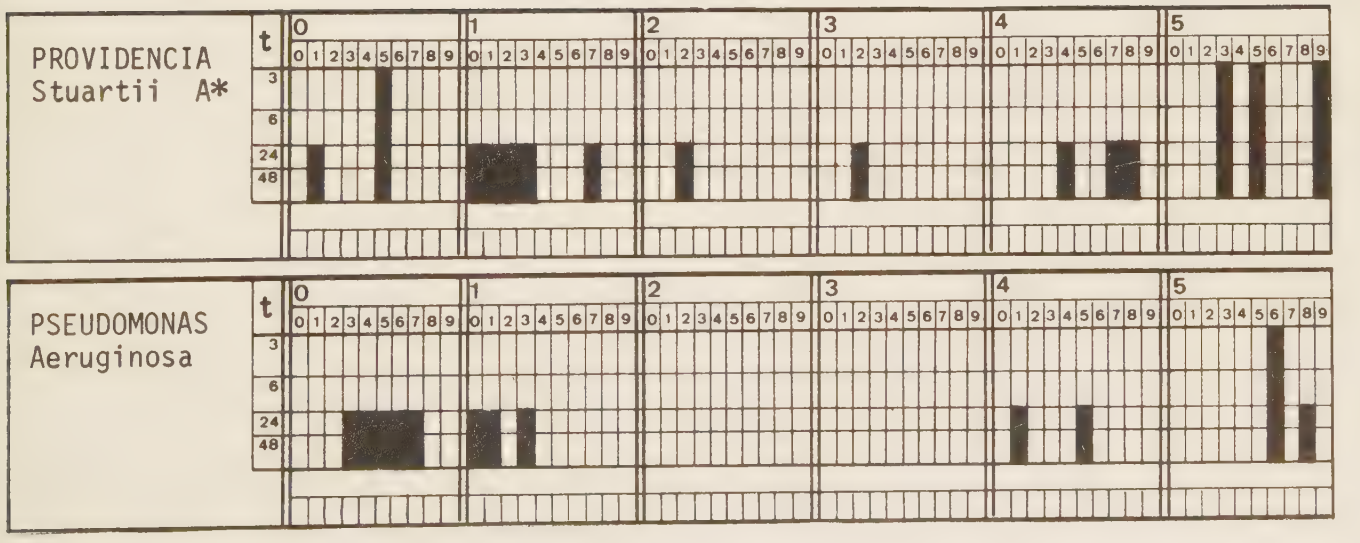
1. Ampicilline
2. Carbenicilline
3. Keflin
4. Streptomycine
5. Gentamycine
6. Colimycine
7. Chloramphénicol
8. Rifampicine
9. Acide nalidixique

Malade BEY ...

SECRETIONS BRONCHIQUES



URINES



*A, B = Nitrate - reductases A ou B

CHAPITRE III

LYSOTYPIE DE PROVIDENCIA STUARTII

I. INTERET DE LA RECHERCHE DES LYSOTYPES

L'infection hospitalière est au premier plan des problèmes infectieux modernes. Parmi le plus grand nombre de bactéries qui interviennent dans l'"hospitalisme" les plus importantes sont celles qui peuvent acquérir une résistance aux antibiotiques. Le genre Providencia illustre parfaitement ce propos. Ces germes considérés autrefois comme saprophytes ou responsables d'infections mineures (gastro-entérites chez les enfants) sont promus aujourd'hui au rang de bactéries pathogènes.

L'association de nombreux facteurs rend compte de cette évolution : usage généralisé des antibiotiques avec une presciption parfois anarchique, sélection des espèces bactériennes résistantes, maintien en survie dans les services de réanimation de grands malades particulièrement fragiles, réceptifs aux infections et capables de les propager.

Dans cet ordre d'idée Providencia stuartii semble prendre une place d'importance dans cette pathologie nouvelle : l'infection hospitalière à germes d'"avenir" (CHABBERT).

Nous n'en voulons pour preuve que le rapport des auteurs américains, CURRERI, BRUCK, LINDBERG, MASON et PRUITT du Centre des Brûlés de l'hôpital de HOUSTON (38). Ces auteurs constatent en effet, une augmentation importante de la mortalité chez les brûlés. L'évolution de l'infection chez les brûlés a été (dans la série qu'ils ont observée) fréquemment compliquée de bactériémie et pneumonie. Pour expliquer ces faits, des prélèvements de sang, de crachats, d'urines, et de la surface

brûlée, furent pratiqués systématiquement à l'admission du malade dans le service. Des prélèvements furent ensuite effectués pendant toute la durée du traitement. Providencia stuartii fut le germe le plus fréquemment retrouvé dans le sang, supplantant le bacille pyocyanique. A partir des cultures de crachats, l'augmentation du nombre de souches de Providencia pendant cette étude, par rapport aux résultats antérieurs, fut de 700 %. Les décès survenant chez des malades initialement porteurs de Providencia dans la salive (ou dans l'expectoriation) représentaient 62 % des cas. Le bacille pyocyanique ne venait qu'en seconde position, 52 % des cas.

Plus d'un tiers des urocultures étaient positives à Providencia ou Candida albicans. L'analyse des téguments du malade à l'admission et durant le séjour révèle une augmentation dramatique de la colonisation secondaire des téguments par Providencia stuartii. En fait, l'augmentation du portage cutané des Providencia stuartii résistants aux antibiotiques est une notion capitale que l'on doit rapprocher de l'observation d'ACAR (1) portant sur la population bactérienne cutanée d'un malade placé en environnement stérile. En effet, les notions de substitutions de flore au niveau du revêtement cutané à la suite de traitement général antibiotique sont très mal connues en France. Les bactéries à gram négatif sont en général rarement retrouvés en abondance sur la peau. Elles font partie d'une flore de transit assez facile à éliminer. D'autre part il semble logique de penser que la colonisation d'un territoire se fait à partir d'un territoire contigu.

La variation de flore avec apparition de bacilles gram négatif sur les différents secteurs cutanés chez des malades gravement atteints que sont les malades d'un service de Réanimation fut démontrée par de nombreux auteurs. Les souches observées sur la peau sont souvent d'origine digestive (observation d'ACAR) en particulier bacilles gram négatif et

"Le réservoir digestif bactérien s'affirme comme un élément essentiel du risque infectieux par la dissémination de bactéries sur la maladie et sur environnement" (ACAR) (1).

Toutefois, en se montrant prudent sur le fait qu'il est difficile de savoir le moment exact du prélèvement à l'admission du malade, ces constatations suggèrent une large diffusion hospitalière de ces germes qui était restée dans une large mesure non explorée. En effet, cette diffusion hospitalière a été la conséquence logique de l'installation insidieuse de la contamination des malades par Providencia stuartii. C'est l'analyse des causes bactériologiques de mortalité et la connaissance du "microbiological profil" de cette unité de Brûlés de Houston qui a conduit à prendre conscience de l'extraordinaire diffusion du germe dans l'environnement.

Ces mêmes auteurs constatent, et nous le reverrons par la suite, que les antibiotiques les plus efficaces le sont sur seulement 12 % des souches et encore à des concentrations supérieures aux taux thérapeutiques usuels. Encore plus intéressant est le bilan des autopsies pratiquées pendant cette même période. Sur 70 malades autopsiés, la pneumonie à Providencia était la cause évidente du décès chez 30 malades (c'est-à-dire, germe isolé à partir de cultures post-mortem de fragments de poumon).

Pour entreprendre l'étude épidémiologique des infections hospitalières, on a recours en général à des marqueurs bactériens : le biotype, le sérotype, le lysotype, le bactériocinotype, etc... Le sérotype est couramment utilisé en routine dans le diagnostic des Salmonelloses. Toutes ces recherches couplées doivent pouvoir s'accomplir dans un laboratoire hospitalier afin d'obtenir de meilleures précisions sur l'origine de la contamination et surtout de voir s'il y a contamination ou non. Dans le cas des Providencia, la classification sérologique n'est pas utilisable en pratique. Dans notre cas il y avait donc obligation de recourir au biotype et au lysotype.

C'est dans cet esprit que nous avons pu effectué la lysotypie de 160 souches de Providencia stuartii dans le Service des Bactériophages de l'Institut Pasteur (Dr VIEU).

Nous avons recherché l'activité d'une série de 20 bactériophages sur 160 souches de P. stuartii.

II. PRINCIPE DE LA LYSOTYPIE

Les travaux de TWORT et de d'HERELLE ont montré que des cultures bactériennes pouvaient être lysées par des virus filtrants = les bactériophages appelés plus simplement phages, véritables agents pathogènes des bactéries. Ces virus sont utilisés en thérapeutique, pour lutter contre les germes résistants aux antibiotiques (en particulier, le bacille pyocyanique).

L'action des phages (lyse des cultures bactériennes) est liée à l'existence de récepteurs de la paroi et ses rapports sont étroits avec la constitution antigénique du germe détruit. Chaque phage possède une action spécifique pour une souche déterminée.

La gamme des bactériophages étant très étendue, il a été possible de subdiviser les espèces bactériennes en allant plus loin que les chimiotypes et les sérotypes et ainsi d'obtenir des lysotypes. Leur détermination est connue sous le nom de lysotypie ou phage-typing des Anglo-Saxons.

Cette méthode possède un grand intérêt épidémiologique, car elle permet au cours d'une épidémie de suivre la filiation des cas dus à une même souche et souvent ainsi de démasquer des contaminateurs ignorés.

III. METHODES

1. Le milieu

Le milieu utilisé pour la culture des bactéries est un milieu gélosé additionné d'extrait de levures (DIFCO).

Eau distillée.....	1 000 ml
Chlorure de sodium.....	6 g
Peptone S.C.....	20 g
Extrait de levure.....	3 g
Gélose Bio Mar en poudre.....	12 g

Ce milieu est coulé en boîtes de Pétri plastique de 9 cm de diamètre (25 ml par boîte).

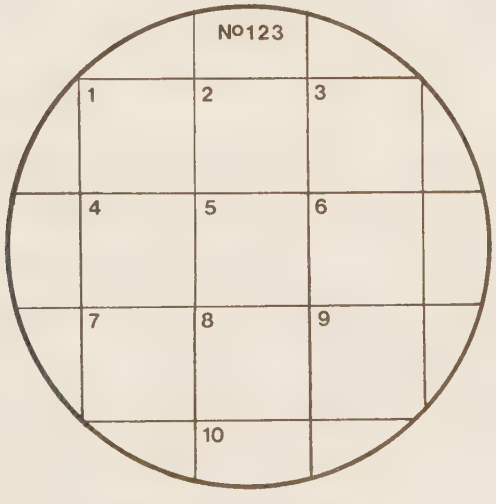
Les phages qui ne sont pas isolés d'eaux d'égoûts proviennent de la collection du Service des Bactériophages et ont été tous isolés depuis 1971 d'effluents hospitaliers au cours d'un programme entrepris précisément pour réaliser une lysotypie des Providencia.

2. Technique

a) méthode manuelle :

On procède à un ensemencement par inondation de toute la surface d'une plaque de gélose en boîte de Pétri avec quelques millilitres de culture en milieu liquide (bouillon ordinaire). On enlève l'excès de liquide au moyen d'une aspiration mécanique (pipette Pasteur reliée à une fiole de Kitasato, connectée avec une pompe à eau). On place dans la fiole, puisqu'on manipule des germes pathogènes, 20 à 30 ml d'eau de Javel.

Le quadrillage destiné à réserver les différents bactériophages est tracé sur le fond de la boîte de Pétri (Cf. schéma ci-dessous).



Comme nous testons une série de 20 bactériophages, il est nécessaire d'utiliser deux plaques de gélose capables de recevoir chacune 10 bactériophages différents. Les boîtes ainsi ensemencées et numérotées

sont préincubées à l'étuve à 37° C pendant environ 1/2 heure (couvercle ouvert).

Les gouttes des différents bactériophages sont ensuite déposées dans les carrés correspondants du quadrillage au moyen de seringues armées d'aiguilles hypodermiques (seringues de BARTHELEMY de 1 ml avec division au 1/10). Après séchage des gouttes de phages on incube 18 H à 37° C.

Nous avons utilisé cette technique pour mesurer l'activité lytique des 20 préparations bactériophagiques pures non diluées.

b) Méthode semi-automatique : l'appareil BIDDULPH

La mise en oeuvre d'une technique automatisée s'impose lorsqu'on veut étudier de façon rapide un très grand nombre de souches. Nous avons utilisé le "phage typing apparatus de LIDWELL" fabriqué par BIDDULPH et Cie (MANCHESTER G.B) appareil déjà utilisé pour la lysotypie des staphylocoques et de pseudomonas aeruginosa.

L'appareil BIDDULPH utilise le même procédé pour l'application des gouttes de bactériophages sur la plaque de gélose mais il est conçu de telle sorte que les différentes opérations soient "mécanisées". Il permet de réaliser simultanément l'étude de 27 bactériophages.

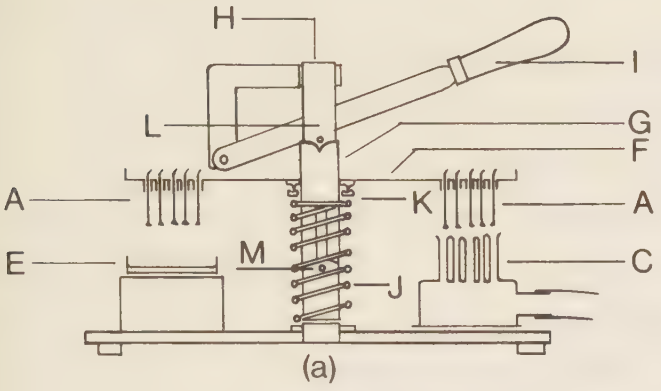
Description de l'appareil :

On dispose de 27 boucles en nickel-chrome glissant librement sur leurs guides (Cf. schéma, page 50). Elles sont situées aux deux extrémités d'une plaque de métal mobile. Cette plaque est montée sur un pilier central vertical de telle manière qu'elle tourne de 90° dans tous les sens. D'autre part, grâce à un levier, cette plaque, par l'intermédiaire des 27 boucles, permet de déposer exactement au contact de la gélose les bactériophages étudiés.

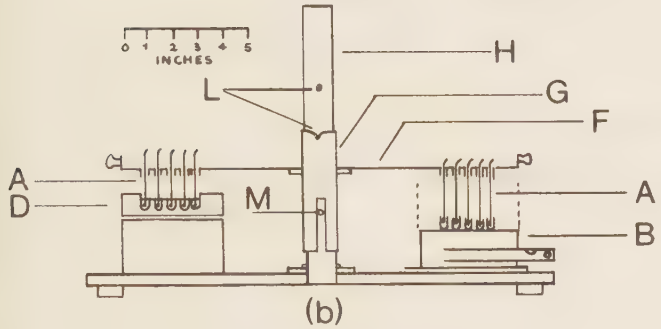
L'opération se déroule en 4 temps :

1. Stérilisation d'une série de 27 boucles par passage dans un bac d'alcool à 90° puis chauffage grâce à des microjets de gaz (Bec Bunsen spécial).

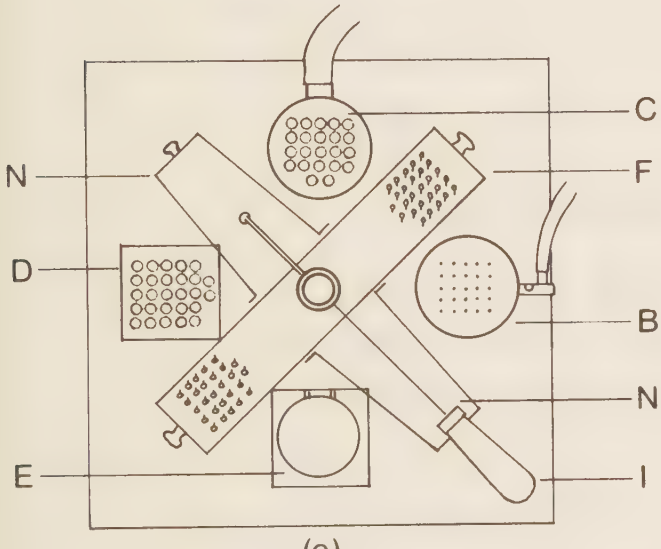
SCHEMAS DE L' APPAREIL



(a)



(b)



(c)

boucle

Coupe

a) Section verticale d'avant en arrière passant par la ligne médiane. Le levier est placé dans une position identique au plan c.

Coupe

b) Section verticale de droite à gauche passant par la ligne médiane. Le levier ne figure pas sur le schéma.

c) Vue de dessus.

A. Boucles de nichrome qui sont mobiles grâce au guide et mues par un ressort, à partir du contact avec la gélose.

B. Bec Bunsen.

C. Courant d'air froid et blocs de neige carbonique.

D. Bloc de Perspex fait pour recevoir 27 cupules (suspension de bactériophages).

E. Boite de Petri prête à recevoir les gouttes de bactériophages.

F. Plaques de métal mobiles autour du pilier H.

I. Manche destiné à permettre de déposer les gouttes de bactériophages sur la plaque de gélose.

J. Ressort.

2. Les 27 aiguilles bouclées sont refroidies par un jet d'air réfrigéré par passage au dessus d'une couche de neige carbonique.

3. Les boucles sont trempées dans les différentes suspensions de bactériophages contenues dans des cupules creusées dans un bloc de plexiglas.

4. Les bactériophages ainsi prélevés sont déposés à la surface de la gélose préalablement ensemencée par la culture de Providencia, en prenant la précaution d'éviter que la boucle ne fasse une marque sur la gélose.

Cette série de boucles est ensuite trempée dans le bac d'alcool à 60° et on recommence les opérations au stade 1 avec une nouvelle souche.

Nous avons utilisé cet appareil pour la détermination de l'activité des phages dilués. Dans ce cas, les préparations virales sont employées à la dilution limite R.T.D. ou Routine Test Dilution.

IV. RESULTATS

1. Données générales (Cf. tableaux I et II, pages 59 et 70)

Parmi les 160 souches étudiées, 66,2 % étaient sensibles à l'action lytique d'au moins un des 20 bactériophages étudiés à R.T.D.

Les bactériophages les plus actifs sont les bactériophages 16 et 17.

Il est certain que l'étude d'un beaucoup plus grand nombre de cultures, éprouvées par la même série de bactériophages, devrait permettre d'étudier la répartition statistique des réactions lytiques des différents bactériophages et d'en tirer des conclusions plus précises applicables à l'épidémiologie.

2. Lysotypes (Cf. tableau ci-après)

Le nombre de lysotypes individualisés est de 24 et il est très

REPARTITION DES LYSOTYPES EN FONCTION DE L'ORIGINE DES SOUCHES

Origine des souches			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Gre-noble	Lyon																					
3	14	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-
1	34	II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
8	4	III	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	1	IV	-	-	-	-	-	-	-	-	+++v	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	++++	++++
-	3	V	-	-	-	-	-	-	-	-	+++v	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-	-
5	3	VI	-	-	-	-	-	-	-	-	+++v	-	LCv	-	-	-	-	LC	+++	-	-	++++
-	1	VII	-	-	-	-	-	LC-v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	++	-	-	-
1	5	VIII	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++ ou LC-	+++ ou LC-	+++ ou LC-	-	-	-	-	-
-	1	IX	-	-	-	-	-	LC-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	++++	-	-	-	-
-	2	X	-	-	-	-	-	-	-	-	++++	-	LC	-	-	-	-	LC	+++	-	-	-
-	4	XI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	+++	++++
-	3	XII	-	-	-	-	-	-	-	-	+++v	-	LCv	-	-	-	-	LC	+++	-	+++	-
-	2	XIII	-	-	-	-	-	-	-	-	+++v	-	LCv	-	-	-	-	LC	+++	-	+++	+++

Gre-noble	Lyon		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
-	1	XIV	-	-	-	-	-	-	-	-	++v	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	+++	-
8	-	XV	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-	++++
-	1	XVI	+++v	-	-	-	-	-	-	-	+++v	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-	+++	-
1	-	XVII	+++v	-	-	-	-	-	-	-	+++v	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-	+++
-	1	XVIII	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-	-
-	3	XIX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	LC	+++	-	+++	-
-	3	XX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	+++	-
1		XXI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	+++	+++
1	-	XXII	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-
1	-	XXIII	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	1	XXIV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	LC	+++	-	-	-

probable que d'autres lysotypes seront individualisés ultérieurement. Ces lysotypes sont définis par un nombre variable de bactériophages (de 1 à 7).

D'autre part, sur gélose comme le signale STUART (136) les Providencia se dissocient facilement en phase S → phase R, car c'est la phase R qui est habituelle et se développe sur gélose molle à 25° ou 37° C. On constate également l'apparition de colonies opaques appelées colonies S (de Stuart) ne se multipliant pas sur milieu S.S. Ces colonies S ne sont pas comparables aux formes S dites smooth ordinaire.

En général, à l'isolement, et surtout lorsqu'il s'agit d'une souche repiquée, on observe les images suivantes :

- colonies opaques dites S de Stuart
- colonies irisées (S)
- colonies rugueuses (R) ; ces colonies agglutinent en eau physiologique, c'est pourquoi nous avons pris la précaution de tester toutes nos souches en eau physiologique avant de les lysotyper. En cas d'agglutination, la souche était réisolée dans le but d'en extraire la phase S.

3. Comparaison avec les résultats de la littérature

Il est difficile d'établir une comparaison, car, sauf erreur, il s'agit d'une première tentative dans ce domaine sur un grand nombre de souches tout au moins.

Dans une note de 1963, VIEU (143) signale que quatre cultures de Providencia appartenant au sérotype O13 H 30 et considérés comme responsables de gastro-entérites infantiles (STENZEL (133)) avaient été examinées par une batterie de phages de lysogénie ; et les quatre souches bien qu'isolées au cours d'une épidémie de gastro-entérite infantile en Allemagne, n'avaient pas présenté le même spectre de sensibilité aux bactériophages. Elles n'avaient pas non plus les mêmes propriétés lysogènes.

Cependant, les quelques résultats préliminaires du service du

Dr VIEU nous permettent de dire que plusieurs des lysotypes isolés au cours de notre étude ont été retrouvés chez des Providencia isolés d'hémocultures dans d'autres hôpitaux français, en particulier le lysotype VIII.

V. COMMENTAIRES

1. Les résultats de la lysotypie

Nous avons donc utilisé comme "marqueur épidémiologique" la sensibilité ou la résistance des Providencia à l'action de 20 bactériophages spécifiques des Providencia.

Cependant, in vitro, il faut savoir que la stabilité des lysotypes dépend du mode de conservation des souches au laboratoire. En effet, la dégradation des cultures s'accompagne dans un premier temps, de l'apparition de nouvelles réactions avec des phages non spécifiques ou de la perte de la sensibilité au phage spécifique ; dans un deuxième stade, la disparition du récepteur bactérien des bactériophages rend toute lysotypie impossible. Au cours de cette dégradation des cultures de laboratoire, les altérations des lysotypes précèdent des modifications décelables par les méthodes sérologiques.

En raison de l'instabilité des souches de Providencia stuartii, la conservation du lysotype comporte certainement des difficultés analogues à celles que présente la conservation du lysotype chez Pseudomonas aeruginosa (BEUMER (8)). On ne sait rien actuellement des altérations déterminées par la lyophilisation. Dans le Service des Bactériophages de l'Institut Pasteur, les souches-types sont conservées à l'état congelé à basse température.

Parmi les 160 cultures de Providencia isolées et lysotypées, certaines se montrent résistantes à l'ensemble des 20 bactériophages utilisés. Pourtant les souches de multiplication des bactériophages étudiés sont des souches provenant d'autres hôpitaux français. C'est notre première constatation importante qui mériterait un approfondissement par des recherches ultérieures.

La lysotypie a permis de distinguer 24 lysotypes différents et ces lysotypes en général ne rassemblent qu'un nombre restreint de souches.

2. Interprétation épidémiologique

La réalisation d'une étude détaillée à Grenoble permet de dire qu'il n'y a pas eu de véritable épidémie hospitalière étendue au cours de la période d'observation. Cependant, on ne peut nier l'existence de petits foyers successifs de contamination comme en témoigne le caractère "sinusoïdal" de l'isolement de nos souches (période de repos entre les périodes où on isole de nombreuses Providencia).

A la lueur de quelques observations faites dans un même Pavillon, il semble que chaque malade héberge un lysotype particulier (ce qui apporte une preuve supplémentaire à l'affirmation précédente). D'autre part, il y a souvent corrélation entre le lysotype et le biotype dans la mesure où le biotype est très particulier ; il peut également nous servir de traceur.

Cependant, les cultures isolées de différents prélèvements chez un même malade, peuvent appartenir à des lysotypes différents. Nous avons isolé jusqu'à 5 lysotypes différents chez un même malade. Ainsi, si certains malades hébergent un même lysotype, certains en hébergent plusieurs. La coexistence de plusieurs lysotypes de Providencia chez le même malade lors de prélèvements simultanés ou itératifs, est à rapprocher d'une observation analogue faite par BERGOGNE, PIECHAUD, VIEU et coll. (7) avec les Moraxella chez les polytraumatisés. Ceci suppose donc l'existence d'infections mixtes à Providencia, dont le diagnostic repose sur la lysotypie comme c'est le cas pour d'autres infections hospitalières telles que les infections à Pseudomonas aeruginosa.

Cette étude même privée de certains renseignements apportant des preuves formelles nous montre que les infections hospitalières à Providencia ne peuvent être considérées dans leur ensemble comme un incident négligeable sur le plan épidémiologique.

L'existence de petits foyers épidémiques, la possibilité de substitution de flore (en particulier, dans les sécrétions trachéales), la grande résistance de ces germes aux antibiotiques comme nous le verrons plus loin, doivent faire considérer ces bactéries comme partie intégrante de la flore hospitalière au même titre que les Pseudomonas, les staphylocoques, les Serratia et d'autres Entérobactéries (Klebsiella par exemple).

CODE DES ABREVIATIONS UTILISEES DANS LES TABLEAUX DES RESULTATS DE LYSOTYPIE

-	= aucune trace de lyse
LC	= lyse confluente
+ à ++++	= plages plus ou moins nombreuses de 10 à supérieur à 100
LCv	= lyse confluente voilée par une abondante culture secondaire
LC_A	= lyse confluente entourée d'une auréole semi-lysée
2	= 2 plages (nombre exact de plages)
$\overset{+}{-}$	= réaction inconstante ou d'intensité variable
LC-	= activité comprise entre ++++ et LC
V+	= correspond à une action isolée
$+++_A$	= plage auréolée - cette auréole est due à la fabrication par la bactérie d'un enzyme lytique.

Dans les tableaux récapitulatifs :

Les réactions (1 plage à 10 plages ou V $\overset{+}{-}$) sont considérés comme négatives.

Les réactions + ou $+_A$ ainsi que ++ sont considérés comme $\overset{+}{-}$

On ne compte comme positives que les réactions à partir de +++, ++++, LC, LCv ou LC-.

T A B L E A U I

ACTIVITE DES PHAGES PURS

° es u- es	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	LCv	-	-	-	-	LC	LC	-	+	LCv
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	LC
	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
10	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	+	LCv
12	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	LCv	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LCv

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LC	-	-	LC
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC V	-	V +	-	-	-	LC	LC	-	+	LC V
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC-v	LC-v	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
23	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	LC	LC	LC	-	-	-
25	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LC-v	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	++	LC
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	LCv	LCv	LCv	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	LC	LC	LC	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	LC
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
35	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	LC	LC	LC	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
43	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	V+
45	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
48	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC_A	LC_A	LC_A	-	-	-	-	-

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	-	LC
54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
58	LC	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
63 bis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
65	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
66	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	++	LC
67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	-	LC

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
72	LC	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
74	LC	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
83	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-
85	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
86	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
88	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-
90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
91	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
92	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
93	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
98	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
99	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
101	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
102	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LC
103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
104	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
106	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
107	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
108	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
109	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
110	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	+++	LC
111	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	+	LCv
112	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
113	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LC	-	-	-
115	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	LCv	-	-	-	-	-	-	-	-	-
117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
118	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	+++	LC
119	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	++	LC
120	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LCv	LC	-	-	LCv
121	-	-	-	-	4	-	-	-	++++	-	LCv +1	-	-	-	-	+	4	-	LC	LC
122	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	++	LC
123	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	+++	LCv
124	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5_A	1_A	-	LC_A	LC_A	LC_A	-	-	-	-	-
126	LCv	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
127	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	LCv	-	-	-	-	-	-	-	-	-
128	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	+	LCv
129	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	++	LC

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
130	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
132	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	LCv	-	-	-	-	-	-	-	-	-
133	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
134	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	++	LC
135	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	++	LC
136	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	++	LC
137	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	LCv	-	-	-	-	LC	LC	-	++	LC
140	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	LCv	-	-	-	-	LC	LC	-	-	LCv
141	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	++	LC
142	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	+++	LC
201	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
202	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LCv	LC
203	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
206	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LCv	LC
207	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LCv	LC
208	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LCv
209	-	-	-	-	-	-	-	-	++++ v	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LCv
210	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LCv	LC
211	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LCv	LC
212	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
213	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
215	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LCv	LC
216	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LCv	LC
218	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LCv	LC
219	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	-	-	-
220	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
221	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LCv
222	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LCv	LC
223	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LCv	LC
231	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
234	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LCv	LC
236	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
237	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-
238	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-
239	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LCv	LC
240	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
241	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	-	-
242	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	LC	-	LC	LCv
243	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-
244	-	-	-	-	-	LC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	LCv	-	-	-

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
245	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
246	-	-	-	-	-	LC	1	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-

T A B L E A U II

ACTIVITE DES PHAGES A LA R.T.D.

	1	4	6	9	11	13	14	15	16	17	19	20
1	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	2
4	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	2
5	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	+
9	-	-	LC-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	++++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	-	1
12	-	-	-	+++v	LCv	-	-	-	LC	+++	-	++++
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	++++
14	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	++v	-	-
16	-	-	-	5	-	-	-	-	LC	+++	-	-
17	-	-	-	+++v	-	+v	-	1	LC	+++	4	2
18	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	++v	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	?	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	+	-	-
22	-	-	-	2	-	-	-	-	LC	+++	-	-
23	-	-	LC-	-	-	-	-	-	LCv	++	-	-
24	-	-	-	-	-	LC-	LC-	LC-	-	-	-	++
25	-	-	LC-	-	LCv	-	-	-	++++	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	++v	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	LC-v	++	-	-
28	-	-	-	++++	v+	-	-	-	LC	+++	-	-
29	-	-	-	-	-	+++	+++	LC-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-
31	-	-	-	3	-	-	-	-	LC	+++	-	-
32	-	2	2	-	-	+++	+++	LC-	-	-	-	-
33	-	-	-	+++v	LCv	-	-	-	LC	+++	-	+++v

	1	4	6	9	11	13	14	15	16	17	19	20
34	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-
35	-	-	LC-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	++	+++	+++
37	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	++	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	+++	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	+v	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	++v	-	-
41	-	-	-	-	-	LC-	LC-	LC-	-	-	-	+
42	-	-	-	+++v	LCv	-	-	-	LC	+++	+++v	-
43	-	-	-	++v	-	-	-	-	LC	+++	+++	-
45	-	-	-	+++v	LCv	-	-	-	LC	+++	+++	+++
46	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	++v	-	-
47	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-
48	-	-	LC-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	+v	-	-
50	-	-	-	-	-	$+^{++}{}_{A}$	$+^{++}{}_{A}$	$+^{++}{}_{A}$	-	-	-	$+_{A}$
52	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-
53	-	-	-	+++v	LCv	-	-	-	LC	+++	-	+
54	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	++++	-	-
55	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-
56	-	-	-	-	-	-	-	-	LC-v	++	-	-
58	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-
61	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	++	-	-
62	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	+v	-	-
63	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-
63 bis	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	++v	-	-
65	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	+++v	+++v
66	+++v	-	-	+++v	-	2	1	LC	+++	++v	+++	-
67	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	+++v	-	1

	1	4	6	9	11	13	14	15	16	17	19	20
70	-	-	-	+++v	LCv	-	-	-	LC	+++	-	++++
74	+++	7	-	-	-	-	-	1	LC	+++	-	-
76	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	++	-	-
77	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-
78	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	++	+++
80	-	-	-	1	-	-	-	-	LC	+++	+++	+++
82	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	+++v	+++v
83	-	-	-	+++v	LCv	-	-	-	LC	+++	+++	-
85	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-
86	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-
87	-	-	-	-	LCv	-	-	-	LC	+++	+++	-
88	-	-	-	-	-	-	-	-	LC-v	-	-	-
90	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-
91	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	+++v	-
92	-	-	-	-	LCv	-	-	1	LC	+++	+++v	-
93	-	-	-	+++v	LCv	-	-	-	LC	+++	+++	LCv
98	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	1
99	-	-	-	-	LCv	-	-	-	LC	+++	-	-
100	-	-	-	+++v	LCv	-	-	-	LC	+++	+++	-
101	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	?	-
102	-	-	-	-	-	LCv	-	-	LC-	+++	+++	-
103	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	1
104	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	1
106	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-
107	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	++v	-	-
108	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-
109	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	-	-	-
110	-	-	-	+++	-	-	-	2	LC	+++	-	++++
111	-	-	-	+++v	v+	-	-	-	LC	+++	-	+++v
113	-	-	-	-	LCv	-	-	-	-	-	-	-

	1	4	6	9	11	13	14	15	16	17	19	20
117	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	-	-	-
118	-	-	-	+++v	-	-	-	1	LC	+++	-	++++
119	+++v	-	-	+++v	-	++v	5	1	LC	+++	++v	+++
120	-	-	-	-	-	-	-	-	LCv	++v	-	v+
121	-	-	-	2	v+	-	-	-	-	-	6	+
122	-	-	-	+++	-	-	-	-	LC	+++	-	+++
123	-	-	-	+++	-	-	-	-	LCv	+++	v+	+++
124	-	-	-	-	-	$+++_A$	$+++_A$	$LC-_A$	-	-	-	-
126	-	-	-	-	LCv	-	-	-	LCv	-	-	-
127	-	-	-	-	LCv	4	+	-	-	-	++	-
128	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	-	+++
129	-	-	-	+++	-	-	-	-	LC	+++	-	++++
134	-	-	-	+++	-	-	-	-	LC	+++	-	++++
135	-	-	-	+++	-	-	-	-	LC	+++	-	++++
136	-	-	-	+++	-	-	-	-	LC	+++	-	++++
137	-	-	-	+++v	v+	-	-	1	LC	+++	-	+++v
140	-	-	-	+++v	LCv	-	-	-	LC	+++	-	++++
141	-	-	-	+++v	LCv	-	-	-	LC	+++	-	++++
142	-	-	-	+++v	LCv	-	-	-	LC	+++	-	++++
201	-	-	-	4	-	-	-	-	LC	1	-	-
202	-	-	-	+++	-	-	-	-	LC	+++	+++	+++
203	-	-	LC-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
206	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	++++	++++
207	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	++++	+++
208	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	++++	++++
209	-	-	-	4	-	-	-	-	LC	+++	+++v	-
210	-	-	+++v	-	-	-	-	-	LC	+++	+++	+++
211	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	+++	++++
215	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	+++	++++
216	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	+++	++++

	1	4	6	9	11	13	14	15	16	17	19	20
218	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	+++	++++
221	-	-	-	5	LCv	-	-	-	LC	+++	++++	++v
222	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	++++	++++
223	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	++++	++++
231	-	-	LC-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
234	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	++++	++++
236	-	-	LC-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
238	-	-	LC-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
239	-	-	-	+++v	-	-	-	-	LC	+++	++++	++++
240	-	-	LC-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
241	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	-	-
242	-	-	-	-	-	-	-	-	LC	+++	+++	-
243	-	-	LC-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
244	-	-	LC-v	-	-	-	-	-	-	-	-	-
246	-	-	LC-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CHAPITRE IV

ÉTUDE ANTIBIOTIQUE

I. MATERIEL ET METHODES

1. Technique utilisée

a) milieu de culture :

La méthode des disques étant une méthode quantitative, elle ne peut être réalisée sur tous les milieux. Nous adoptons le milieu de MUELLER-HINTON coulé dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre à raison de 25 ml de milieu par boîte.

b) Inoculum :

Nous partons d'une culture pure en milieu liquide (18 H à 37° C) et nous effectuons les dilutions suivantes :

- 10 gouttes (pipette Pasteur) de culture dans 5 ml de bouillon = dilution A
- Une goutte de solution A dans 5 ml de bouillon = dilution B

La solution B, sur laquelle nous travaillons, est une dilution avec 1/1000 de la culture pure, ce qui correspond à un inoculum de 10^5 bactéries/ml.

c) Ensemencement :

Avec la dilution B on inonde la surface de trois boîtes de Pétri. On réaspire avec une pipette Pasteur l'excédent d'inoculum et on laisse sécher la surface de la gélose quelques minutes à l'étuve à 37° C.

d) Les disques :

Les disques d'antibiotiques utilisés sont ceux délivrés par l'Institut Pasteur. On les dispose à intervalles réguliers à raison de 6 pour deux boîtes et 5 pour la troisième (essentiellement les sulfamides).

e) Prédiffusion et inoculum :

Toutes les boîtes sont abandonnées à la température de laboratoire pendant environ 30 minutes puis mises à l'étuve à 37° C pendant 16 à 18 heures.

2. Lecture et interprétation des résultats

a) Lecture : pour chaque antibiotique

On mesure le diamètre de la zone d'inhibition avec un compas que l'on reporte sur une réglette de précision. Cette distance est ensuite reportée sur l'échelle de concordance correspondante.

Les échelles de concordance sont délivrées par l'Institut Pasteur. (CHABBERT (26)).

b) Interprétation :

Les souches résistantes sont les souches qui cultivent jusqu'au bord du disque (elles correspondent à la bande blanche de l'échelle).

Ces souches ne répondent pas au traitement de quelque type qu'il soit.

Les souches intermédiaires ou limites (bande pointillée de l'échelle) sont des souches pouvant être atténuées par un traitement local, par une augmentation des doses par voie générale ou par une concentration physiologique particulière (urine, bile, etc...).

Les souches sensibles (bande hachurée de l'échelle) sont des souches qui peuvent être atténuées par un traitement à dose habituelle par voie générale.

Cas particuliers :

Colimycine : pour la colimycine qui est un antibiotique polypeptidique diffusant mal en gélose, une zone d'inhibition de 10 à 15 mm indique une couche généralement sensible.

Antibiomimétiques : l'interprétation fut la suivante :

souche sensible : diamètre de la zone d'inhibition supérieur à 15 mm
souche limite : diamètre de la zone d'inhibition inférieur à 15 mm
souche résistante : pas de zone d'inhibition

Sulfamides : il est important de noter que ce test appliqué aux sulfamides n'a qu'une valeur indicative. Il ne permet d'apprécier que la sensibilité d'une souche aux sulfamides en général.

L'interprétation fut la suivante en fonction du diamètre de la zone d'inhibition D :

souche très sensible = D > 25 mm
souche de sensibilité moyenne = 15 < D < 25 mm
souche de sensibilité faible = D < 15 mm ou zone d'inhibition pour 1 ou 2 sulfamides seulement.
souche résistante = absence de zone d'inhibition

3. Substances utilisées

Nous avons testé 17 agents thérapeutiques répartis de la façon suivante :

a) Antibiotiques (13) :

β - LACTAMINES . Pénicillines semi-synthétiques . Céphalosporines	Ampicilline Carbenicilline Cefalothine
AMINOSIDES ou AMINOGLUCOSIDES	Streptomycine Neomycine Framycétine Kanamycine Gentamycine
CHLORAMPHENICOL et DERIVES	Chloramphénicol
TETRACYCLINES	Tétracycline
POLYPEPTIDES	Colimycine
MACROLIDES . Rifamycines	Spiramycine Rifampicine

b) Antibiomimétiques (2) :

- Nitrofurantoïne
- Acide nalidixique

c) Sulfamides (5) :

- Sulfaméthylthiodiazol	RUFOL
- Sulfaméthoxazole + Trimethoprime	BACTRIM - EUSAPRIM
- Sulfadiazine	ADIAZINE
- Sulfaméthoxipyridazine	SULTIRENE
- Sulfathiazole	THIAZOMIDE

II. RESULTATS DE LA LITTERATURE

Bien qu'il soit difficile de comparer les résultats d'antibiogramme d'un auteur à un autre en vertu du fait qu'il n'existe pas de méthode standard internationale pour la réalisation de l'antibiogramme, il semble intéressant toutefois de détailler certaines statistiques de la littérature concernant le spectre antibiotique des Providencia.

LUTZ et HOFFERER (80) en 1955, ont montré qu'en général les Providencia avaient un spectre antibiotique différent de celui des quatre autres espèces du genre Proteus.

Chacun d'entre eux présente en général un spectre assez particulier (POOLE, POTEE et WRIGHT, FINLAND 1954, cités par MIDDLETON).

Le spectre antibiotique de Proteus morganii se rapproche de celui de Providencia alcalifaciens tandis que celui de Proteus rettgeri se rapproche de celui de Providencia stuartii.

En effet, les souches de P. morganii et P. rettgeri sont le plus souvent soit sensibles, soit résistantes à la streptomycine, les tétracyclines et les chloramphénicol que celles de P. vulgaris et P. mirabilis.

D'autre part, les Providencia furent souvent confondus avec

les Shigella et de plus le spectre antibiotique est voisin. Cependant, les Providencia sont en général résistants à la polymyxine alors que les Shigella sont très sensibles à cet antibiotique (FELSENFELD). Il faut signaler que l'étude porte sur 6 des 31 biotypes d'EWING. L'étude est valable car ces 6 biotypes regroupent la majorité des 611 souches étudiées par EWING.

Les 9 souches isolées d'urines appartenaient toutes au biotype 27. Il est possible d'envisager une épidémie avec une prédilection du sous-groupe B pour les urines.

MIDDLETON (84) fait état d'une statistique portant sur 40 souches de Providencia (20 souches du s/groupe A et 20 souches du s/groupe B) provenant essentiellement de selles. Il trouve une résistance totale pour la pénicilline, le novobiocine, la bacitracine, l'érythromycine, la spiramycine et l'oléandomycine.

Les souches sont en général sensibles à la néomycine, la soframycine et la nitrofurantoïne et 15 % d'entre elles à la polymyxine.

Ce qui est plus remarquable encore : l'auteur fait état d'une différence de sensibilité entre le groupe 1 et le groupe 2, le groupe 2 étant plus résistant mais il n'existe pas de différence marquée entre les différents biotypes composant ces 2 biogroupes. Nous n'avons pu malheureusement constaté ce résultat puisque nous avons isolé 1 seule souche de P. alcalifaciens durant notre période d'étude.

La statistique de BROOKE (12) portant sur 35 souches montre une résistance totale à la pénicilline et au sulfathiazole et en général une résistance vis-à-vis de la streptomycine, de la chlortétracycline, de l'oxytétracycline et du chloramphénicol, la majorité de ces 35 souches étant des P. stuartii.

LUTZ et HOFFERER (80) testent 16 souches. Toutes étaient sensibles à la néomycine et la soframycine, 11 souches au chloramphénicol et résistantes à la streptomycine et tétracycline.

Selon DAMMRON (39), étudiant 44 souches de Providencia isolées d'urocultures, ces souches sont très résistantes. La streptomycine, le

chloramphénicol, la tétracycline, la nitrofurantoïne et l'amicilline n'agissent au maximum que sur 15 % des souches. L'acide nalidixique et la kanamycine sont actifs contre 80 % (il faut préciser que cet auteur adopte pour l'acide nalidixique et la nitrofurantoïne l'interprétation suivante : toute souche présentant un halo d'inhibition autour du disque est considérée comme sensible quelque soit le diamètre de ce halo, ce qui lui donne donc des pourcentages "forts" par rapport à ceux d'autres statistiques. La gentamycine elle-même n'est active que dans 27 % des cas, d'autre part 90 % de ces bacilles ne sont sensibles qu'à 2 antibiotiques alors que 4 % des souches sont résistantes à tous les antibiotiques testés. Dans le cas des urocultures, c'est surtout Providencia qui apparaît systématiquement comme résistant ou du moins faiblement sensibles à la gentamycine.

En 1969, DUVAL (50) étudiant le niveau et l'évolution de la résistance des bacilles à gram négatif constate dans une étude portant sur 80 souches de Providencia qu'elles sont constamment polyrésistantes et il est remarquable de constater que l'on rencontre dans ce groupe de germes un nombre important de souches dont la sensibilité à la gentamycine est nulle ou très limitée.

Dans la statistique de DOBREY (45), résultat d'étude de 140 souches (P. stuartii), toutes les souches sont résistantes à la tétracycline, à la colimycine et à la nitrofurantoïne.

Très peu de souches sont sensibles à plus de 7 antibiotiques. L'étude de la plurisensibilité des souches d'origine urinaire montre que la plupart des souches furent moins résistantes à 7 (23 %), 8 antibiotiques (26 %) et 9 antibiotiques (30 %), antibiotiques en substances chimiothérapeutiques.

D'autre part, comme le souligne DAMMRON (39), plus un germe est multirésistant, plus il a également tendance à être résistant aux sulfamides. L'exemple de Providencia est éloquent dans ce domaine.

SOLBERG (131) étudie 37 cas d'infections à Providencia dont le rôle pathogène est démontré de façon formelle. Les résultats de l'étude antibiotique de ces souches dont certaines hautement virulentes

pour l'animal confirment et infirment à la fois les résultats précédents. Si l'activité de la kanamycine est retrouvée forte (100 % des souches sensibles à 3,1 µg/ml et 97 % à 1,6 mcg/ml), il trouve par contre une bonne activité de l'acide nalidixique, de la carbenicilline et surtout de la gentamycine. La résistance est totale pour la tétracycline, la polymycine, la colimycine et la nitrofurantoïne.

III. LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

Elle est particulièrement redoutable et fréquente chez des individus traités par des antibiotiques. Mais la survenue de cette résistance s'est montrée, en fait, d'une fréquence variable selon le mécanisme génétique qui en est responsable. La part prise actuellement dans ces mécaniques de résistance par les facteurs de transfert extrachromosomique est de plus en plus grande en clinique et la résistance multiple qui en découle de plus en plus angoissante, lorsque l'on sait que par ce mécanisme, la résistance à plusieurs antibiotiques à la fois, peut être transférée directement par contact entre les bactéries résistantes et les bactéries sensibles.

On ne peut donc parler d'un microbe de l'hospitalisme (comme le Providencia) sans parler de la résistance aux antibiotiques.

Il existe deux formes de résistance.

1. La résistance chromosomique

Elle est faible (d'environ 10 %) qui montre que la bactérie sous l'effet d'un antibiotique subit une mutation et devient de ce fait rapidement résistante au même antibiotique considéré. En réalité, très peu de cas cliniques sont dus à la mutation vers la résistance.

L'explication chromosomique ne suffit pas à démontrer l'aspect explosif et considérable des multirésistances actuelles, en particulier dans le groupe des Providencia.

2. La résistance extra-chromosomique

Des observations épidémiologiques, bactériologiques et cliniques amenèrent OCHIAI et AKIBA à émettre et vérifier l'hypothèse selon laquelle la multirésistance (Streptomycine - Chloramphénicol - Tetracyclines - Sulfamides) des Shigella observée au Japon était transférée aux Shigella sensibles par des E. Coli multirésistants préexistants dans l'intestin des malades.

Ce transfert nécessite un contact cellulaire direct et ne s'effectue pas par l'intermédiaire d'un bactériophage (WATANABE, MITSUHASHI).

a) Transmission d'un facteur de résistance R :

Ce mode de transmission est l'apanage des bactéries gram-négatives. Le facteur de résistance R (ou RTF = résistance transfert factor) est un facteur de transfert qui supporte un ou plusieurs marqueurs génétiques de la série ampicilline - streptomycine - kanamycine - chloramphénicol - tetracyclines - sulfamides = A. S. K. C. T. Su. Ces caractères sont transférés d'une bactérie porteuse à une bactérie neuve par un mécanisme analogue à la conjugaison sexuelle des bactéries (facteur F). Ce facteur extrachromosomique se replique dans des bactéries filles. Cette résistance est donc héréditaire.

Ainsi on voit que la résistance à chaque antibiotique est gouvernée par un déterminant génétique appelé *marqueur* ou *caractère de résistance*. Ces caractères de résistance sont incapables de se transférer par eux-mêmes. Nous avons vu que leur transmission d'une bactérie à une autre est le fait du R.T.F. appelé aussi facteur ou régime t.

Le facteur R (ou R factor) est donc en fait constitué par l'ensemble du facteur de transfert et des caractères de résistance. Le transfert aux cellules réceptives est accompli par conjugaison.

Le deuxième mode de résistance extra-chromosomique est

b) La transduction phagique :

Elle est retrouvée chez les staphylocoques et les entérobactéries. Dans ce cas, il y a transmission de matériel génétique extrachromosomique

(porteur ou non de caractère de résistance) par les bactériophages qui sont les virus infectants des bactéries.

3. Mise en évidence de la résistance transférable chez les Providencia

La présence de facteurs R dans une bactérie peut être démontrée en prouvant que la résistance à la drogue peut être transférée à une souche sensible à cet antibiotique. Le transfert consiste donc à mélanger deux souches, l'une donatrice, l'autre réceptrice et à sélectionner en fin d'expérience la souche réceptrice devenue résistante. Pour effectuer cette sélection, on utilise un milieu de culture sélecteur contenant l'un des antibiotiques dont on recherche le transfert de résistance.

Le facteur R est éliminé par traitement de la bactérie aux sels d'acridine. C'est une autre voie pour démontrer la présence du facteur de résistance dans une bactérie. Dans le même but, on peut utiliser les sels d'acriflavine ou le bromhydrate d'éthidium.

Plusieurs expériences ont été tentées dans ce domaine ces dernières années.

DOBREY (45) utilise 2 souches d'E. Coli (E. coli (lactose négatif) K 12, 711 et K 12 JK) connus pour être de bonnes souches pour les facteurs transférables de résistance. Les souches sont résistantes toutes les deux à l'acide nalidixique mais sensibles à tous les antibiotiques utilisés communément en thérapeutique contre les entérobactéries.

En aucun cas, il n'a pu être démontré de facteur de transfert de résistance d'une Providencia à la bactérie réceptrice. Les Providencia ne semblent donc pas transporter de facteur R mais on ne doit pas pour cette raison écarter complètement la possibilité.

En effet, CHRISTOL (30), lors d'une étude sur caractères de résistance transférables isolés en France à des souches réceptrices (en général, E. coli, à partir d'une Providencia portant des caractères : A.S.K.C.T.Su) a pu transférer les caractères de résistance A.K.Su. mais non les autres. Pour les facteurs S et C des Providencia aucune mobilisation n'a pu être obtenue par l'introduction d'un nouveau facteur t.

L'indépendance des facteurs t et des marqueurs semble donc être assez fréquente.

De même DE MEIRLIERE-BEROLDY (41) en 1970 dans une étude portant sur la flore bactérienne des ulcères des jambes, obtient globalement 20 transferts d'un ou plusieurs facteurs de résistance sur 23 souches de Providencia étudiées. Les caractères de résistance les plus fréquemment transférés étant le facteur A seul ou les facteurs A et K réunis.

De plus, l'examen de la sensibilité des différentes souches bactériennes d'une même espèce isolée chez un même malade, permet de constater que des souches de sensibilité différente vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques ont été successivement rencontrées (en particulier chez les Providencia).

D'autre part, WITCHITZ (146) a mis en évidence un nouveau type de facteur de transfert de résistance à la gentamycine. Celui-ci est différent du caractère G_k déjà décrit ; ce facteur G est porté par un plasmide (Su, T, G, S) appartenant au groupe VII de la classification de CHABBERT. Ce facteur a été étudié en particulier à partir d'une souche de Providencia.

IV. RESULTATS PERSONNELS

Les résultats de notre étude antibiotique figure dans les tableaux ci-après.

Toutes nos souches sont résistantes à la tétracycline, à la colimycine, à la spiramycine et à la nitrofurantoïne (100 % des souches résistantes).

Des antibiotiques polypeptidiques, la colimycine et la polymyxine, sont actifs in vivo et in vitro sur de nombreuses entérobactéries. On sait que ces deux antibiotiques sont le plus souvent inefficaces sur les germes du genre Proteus (bien que 10 à 20 % des souches de Proteus vulgaris soient accessibles).

	Souches sensibles		Souches limites		Souches résistantes	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Ampicilline	9	4,3	11	5,3	185	90,4
Carbenicilline	30	14,4	4	1,8	170	83,8
Cefalothine	15	7,2	101	49,2	89	43,6
Streptomycine	13	6,3	52	25,3	140	68,4
Neomycine	2	0,9	108	52	95	47,1
Framycétine	6	3	117	86,3	22	10,7
Kanamycine	72	35,1	2	0,9	131	64
Gentamycine	9	4,3	175	85,3	21	10,4
Chloramphénicol	1	0,5	11	5,3	193	94,2
Tetracycline	0	0	0	0	205	100
Colimycine	0	0	0	0	205	100
Spiramycine	0	0	0	0	205	100
Rifampicine	73	35,6	124	60,4	8	4
Nitrofurantoïne	0	0	0	0	205	100
Acide nalidixique	39	19	10	4,8	156	76,2

Etude de la sensibilité aux antibiotiques et agents chimiothérapeutiques de 205 souches de Providencia stuartii.

	Souches très sensibles	Souches de sensibilité moyenne	Souches de sensibilité faible	Souches résistantes
	Nombre	Nombre	Nombre	Nombre
Sulfaméthylthiodiazol (RUFOL)	0	3	2	200
Sulfaméthoxazole + Trimethoprime (BACTRIM - EUSAPRIM)	20	24	49	112
Sulfadiazine (ADIAZINE)	0	12	10	183
Sulfaméthoxipyridazine (SULTIRENE)	7	20	2	176
Sulfathiazole (THIAZONIDE)	2	14	9	180

Etude de la sensibilité aux sulfamides de
205 souches de Providencia stuartii.

Il apparaît que les Providencia de notre échantillon se montrent toujours résistantes à certains antibiotiques, type colimycine et tétracycline. Ces résultats observés chez une majorité de souches peuvent être considérés comme n'importe quel autre caractère biochimique.

1. La résistance à la gentamycine

On isole de plus en plus de bacilles gram négatif (Entérobactéries, Pseudomonas, Moraxella) résistants à la gentamycine.

Dans notre étude si le pourcentage de souches sensibles est faible (4,3 %), le pourcentage de souches résistantes l'est aussi (10,4 %). On assiste à un déplacement de la sensibilité vers la zone intermédiaire c'est-à-dire vers la zone où la CMI est supérieure aux doses thérapeutiques couramment employées. Ce phénomène est peut être du à l'utilisation massive de cet antibiotique dans les Centres de Réanimation. En effet, l'utilisation gentamycine-β-lactamine de façon prolongée, peut faire envisager l'hypothèse d'une sélection de mutants résistants. La résistance peut apparaître de deux manières, soit par mutation chromosomique (rare), soit par résistance extrachromosomique transférable. Ce dernier type de résistance existe pour la gentamycine, mais à un niveau encore insuffisant pour l'affirmer.

Quelques conclusions du Symposium Gentamicine à Palma de Majorque en 1969 viennent à l'appui de nos constatations. On trouvait déjà à l'époque que les C.M.I. s'échelonnaient pour cet antibiotique de 1 à 64 µg/ml. Il existait un nombre élevé de souches intermédiaires (C.M.I. comprise entre 4 et 16 µg/ml) ou franchement résistantes (C.M.I. supérieure à 16).

D'autre part les souches les plus résistantes à la gentamicine ne sont pas nécessairement résistantes à la kanamycine. Il semble donc que les Providencia sont de plus en plus fréquemment isolés dans les hôpitaux des grandes villes, en particulier dans des cas d'infections urinaires récidivantes, infections qui posent des problèmes thérapeutiques majeurs. ACAR, lors de ce même Symposium, fait état d'une statistique personnelle effectuée à l'hôpital Saint-Joseph de Paris sur 46 sou-

ches. Il trouve 54 % de souches résistantes ou intermédiaires à la kanamycine contre 82 % à la gentamycine. Des tests effectués sur des souches de collection donnaient des résultats fort différents. Il n'est donc pas interdit de penser qu'une sélection avait déjà pu s'opérer.

D'autre part, il est indéniable que certains liquides biologiques infectés (liquide dialyse ou de lavage péritonéal, urines) créent des conditions particulièrement favorables aux transferts in vivo. S'ils contiennent en outre des antibiotiques (ce qui est le cas, le plus souvent, pour les liquides de lavage péritonéal) à des concentrations suffisantes la sélection peut se faire rapidement.

La gentamycine antibiotique à large spectre a une activité remarquable sur l'ensemble des entérobactéries. Cependant, CHRISTOL (30) dans une étude récente constate qu'il isole 2 fois plus de Providencia entre 1967 (34 souches dont 11 résistantes à la gentamycine, soit 32 %, c'est-à-dire des souches présentant une C.M.I. supérieure à 4 mcg/ml de gentamycine base) et 1970 (souches dont 47 % résistantes à la gentamycine soit 71 %). Ces bactéries sont à l'heure actuelle les plus résistantes que l'on puisse trouver. D'autre part, la sélection de souches résistantes par modification des flores et émergence de souches résistantes avec évolution de souches initialement sensibles vers la résistance (sélection de mutants ou résistance brutale extrachromosomique) explique la fréquence d'isolement croissante en milieu hospitalier des Providencia.

Si les concentrations inhibitrices les plus élevées sont nécessaires vis à vis de Providencia (mais aussi du bacille pyocyanique) on peut se demander si la résistance des Providencia à la gentamycine n'est pas une résistance constitutive caractéristique de l'espèce.

2. La résistance aux β-Lactamines

La faible activité de l'ampicilline (4,3 % de souches sensibles) est connue. Nos résultats pour cet antibiotique sont en accord avec ceux des autres auteurs.

Nous avons par ailleurs (communication non publiée) testé l'activité de 57 souches de Providencia stuartii vis à vis de la metampicilline. Le pourcentage de souches résistantes était de 82 %. Mais nous le répétons, les Providencia posent un problème particulier, car la majorité des souches proviennent de services de Réanimation et appartiennent toutes au biotype 5 d'EWING. Il y a donc de fortes chances pour que le même germe implanté dans un service ait été étudié plusieurs fois, ce qui représente un biais important pour l'étude statistique.

La carbenicilline, molécule dérivée de l'ampicilline semble avoir une activité supérieure. "Cependant les Providencia font partie des Enterobactéries "résistantes" aux β-Lactamines (Klebsielle, Enterobacter, Serratia, Proteus rettgeri et morganii). Ils résistent à des degrés divers à l'ampicilline et aux céphalosporines d'une façon intrinsèque sans que le rôle d'un facteur de résistance transférable soit mis nettement en évidence pour la majorité des souches" (CHABBERT : Rapport d'expertise bactériologique de la carbenicilline).

Les céphalosporines : BRISOU signale un chiffre de 50 % de sensibilité pour les Providencia (étude avec la céfaloridine). Par contre DUVAL (50) indique 100 % de résistance à la céfalothine. On peut faire pour cet antibiotique une constatation analogue à celle prononcée avec la gentamycine. En effet, il est souvent associé à un oligosaccharide (kanamycine et surtout gentamycine) et nous constatons un déplacement de la sensibilité vers la zone intermédiaire. Cependant, il ne semble pas, selon MONTSALLIER (89), que le niveau de résistance ait montré des variations significatives depuis 5 ans.

3. Dans le groupe streptomycine-néomycine-framycétine

La framycétine présente en général, vis à vis des Providencia, un fort pouvoir bactéricide. De plus, elle présente une synergie avec le chloramphénicol pouvant aller jusqu'à la potentialisation de leurs effets bactériostatiques et bactéricides selon LUTZ et HOFFERER (80).

Dans notre étude, si peu de souches présentent une sensibilité nette à ces trois antibiotiques, il faut reconnaître que le pourcentage

important (86,3 %) de souches intermédiaires vis à vis de la framycétine, permet d'envisager un traitement local lors d'ulcérations de jambes ou d'escarres surinfectés par des Providencia.

4. En ce qui concerne la kanamycine

L'activité est bonne (35,6 % de souches sensibles) sans pour cela retrouver les chiffres de DAMMRON (80 %), SOLBERG (100 %), ou DOBREY (75 %). Il est remarquable de constater qu'il existe fort peu de souches intermédiaires (0,9 %), tout comme pour l'ampicilline (5,3 %). Ce sont précisément les deux facteurs de résistance A (ampicilline) et K (kanamycine) qui sont transférés le plus facilement d'une souche donatrice (Providencia) à une souche réceptrice.

5. La résistance naturelle de la rifampicine

Elle est faible. Il en est de même pour les Providencia où le pourcentage de souches sensibles est de 35,6 %.

6. L'acide nalidixique

C'est un antibactérien avec lequel on obtient des taux urinaires efficaces. Cet antibiotique doit donc être utilisé exclusivement sur les souches de Providencia isolées d'infections urinaires. Cette constatation explique peut-être le fait que notre taux de sensibilité de 19 % est inférieur au taux de sensibilité des autres auteurs, puisque nous avons testé des souches de toute provenance.

Dans notre statistique, la présence de souches multirésistantes isolées des malades gravement atteints tend à diminuer d'une façon générale les pourcentages de sensibilité aux différents antibiotiques.

Cependant, en ce qui concerne la plurisensibilité aux antibiotique, plus de 80 % des souches de Providencia ne sont sensibles qu'à deux antibiotiques tests. Parmi celles-ci on retrouve quelques souches, mais ce n'est pas une généralité, résistant à tous les bactériophages testés dans l'étude lysotypique.

7. Sensibilité aux sulfamides

Les différences observées entre les sulfamides ne sauraient être considérées comme applicables en clinique et ne peuvent permettre le choix du sulfamide qui reste subordonné aux règles habituelles en clinique. Notre étude ne permet d'apprécier la sensibilité d'une souche aux sulfamides en général.

L'observation globale de nos résultats a montré que la sensibilité des Providencia aux sulfamides en général est faible, sauf exception, en particulier le sulfaméthoxazole-Trimethoprime.

Il faut pour conclure, examiner les possibilités et les limites de notre méthode d'étude de la sensibilité des Providencia aux antibiotiques.

En effet, lors d'infections urinaires, l'antibiogramme peut être soumis à interprétation, s'il existe un parallélisme net entre la constante minima inhibitrice et les concentrations terminales. Mais ceci ne vaut que si les concentrations terminales se trouvent réalisées sur le site de l'infection, sinon il convient d'interpréter l'antibiogramme. C'est ainsi que dans les urines où les concentrations sont souvent plus fortes, le germe sera atteint même si la C.M.I. est supérieure aux concentrations terminales. L'antibiogramme a donc ses limites et l'une d'elles provient du fait qu'il ne détermine que le pouvoir bactériostatique.

Notre étude avait pour but de situer le niveau actuel de résistance des Providencia. Il semble que ce soit parmi les bactéries hospitalières isolées quotidiennement les plus résistantes, précédant le bacille pyocyanique.

V. CONCLUSION

Notre statistique prouve le niveau élevé de la résistance aux antibiotiques des germes du groupe Providence. Cependant, nous admettons que notre statistique est quelque peu faussée par le fait qu'un même malade est surveillé pendant plusieurs semaines quelquefois. Ce malade peut présenter à l'origine des souches de Providencia sensibles aux antibiotiques mais il est indéniable que cette sensibilité va évoluer durant l'hospitalisation. Ainsi, si on isole dix souches en des localisations différentes chez un même malade, les deux premières souches seront sensibles à l'ampicilline mais les huit autres ne le seront pas.

Par conséquent, une statistique par sensibilité générale peut prêter à confusion. Cette constatation est la conséquence du fait qu'un malade peut héberger plusieurs biotypes ou lysotypes successivement. Ils les sélectionnent en fonction de la thérapeutique. Nous pensons que le plus important est de comparer chez un même malade l'antibiogramme des biotypes isolés en des localisations différentes (urines - bronches) afin de limiter la sélection de mutants résistants par une thérapeutique antibiotique appropriée. En effet, on ne saurait juger la valeur d'un antibiotique sur les seuls critères de l'antibiogramme. Ces éléments sont certes de première importance, mais de nombreuses variables interviennent également. Elles constituent l'activité pharmacodynamique du produit (liaison avec les protéines sériques, diffusion tissulaire, etc...).

Enfin, le jugement porté sur la valeur d'un antibiotique ne saurait être rendu sans l'avis essentiel du clinicien qui en définitive est le seul à pouvoir l'étayer d'une expérience pratique.

CHAPITRE V

LE ROLE PATHOGÈNE DU GROUPE PROVIDENCE

Toutes proportions gardées, on trouve en général peu de cas d'infections à Providencia dans la littérature. Elles sont souvent incluses dans les infections à Proteus (il en va de même pour les statistiques d'antibiogramme), ou dans des publications anciennes. Ces germes sont mal identifiés et étiquetés "Paracolon". Néanmoins, les germes du groupe Providence sont connus comme responsables d'infections urinaires, de bactériémies et de septicémies. Souvent isolés dans les selles où ils se trouvent à l'état commensal, ils peuvent être à l'origine de cas sporadiques de diarrhées aiguës sans que leur rôle pathogène soit clairement établi.

Mais par sa grande résistance aux antibiotiques la survivance de ces germes est logique ; il n'est donc pas interdit de concevoir que le groupe Providence puisse devenir dans le futur un groupe pathogène comme le genre Pseudomonas fut un des chefs de file de la pathologie hospitalière et l'est encore.

I. ROLE DANS LES GASTRO-ENTERITES

C'est le rôle pathogène des Providencia le plus décrit.

En effet, les Providencia peuvent être la cause de petites épidémies ou de cas sporadiques de diarrhées bien que ce rôle soit discuté. Il est indéniable qu'on rencontre ces germes dans des syndromes diarrhéiques ou dysentériques parfois à l'état de pureté, mais il est évident aussi qu'ils sont également isolés chez des sujets normaux en dehors de toute manifestation pathologique digestive.

LE MINOR (76) pense que chez les enfants et dans les intoxications alimentaires on ne peut le suspecter d'être pathogène que quand on le

rencontre en très grand nombre sur les milieux de culture. L'opinion de SINGER, BAR-CHAY et HOENISBERG (128) est légèrement différente. En effet, ces auteurs considèrent que ce genre n'appartient pas à la flore normale intestinale mais qu'il faut le considérer comme le constituant d'une flore de transition qui peut intervenir dans des phénomènes de dysmicrobisme intestinal dus à des modifications du transit ou à des intolérances alimentaires et qui peut également être responsable de petites épidémies saisonnières.

L'incidence des Providencia dans le péril fécal, si elle est faible, fut très explorée. Parmi les nombreux travaux de la littérature (Cf. tableau, page 98) il est à remarquer que cette incidence est fréquente surtout chez l'enfant et l'adolescent où certains sérotypes particuliers de Providencia semblent responsables de gastro-entérites. Ces cas de gastro-entérites semblent sévir sous toutes les latitudes mais en particulier dans les pays chauds et le pourtour méditerranéen.

II. RESPONSABILITE DES PROVIDENCIA EN DEHORS DES GASTRO-ENTERITES

Il faut également signaler que Providencia a pu montrer son pouvoir pathogène par d'autres manifestations que des troubles intestinaux. Citons les suppurations post-opératoires de plaies cutanées, les méningites (DE LUCA (40)), les septicémies (environ 0,8 % des septicémies dues aux entérobactéries), et surtout les troubles urinaires. En effet, la plupart des auteurs isolent ce germe du tractus urinaire. Tous notent en général la grande résistance de ce germe aux antibiotiques. Ces deux faits semblent acquis par tout le monde. Ainsi comme cause d'infections chez l'homme, les bacilles du groupe Providence sont le plus communément rencontrés lors d'infections urinaires. Mais l'incidence vraie de ces germes est difficile à affirmer du fait de la carence de diagnostic dans certains cas. Il est certain qu'un meilleur diagnostic bactériologique de ces germes permettra sans doute de mieux connaître la fréquence d'isolement lors d'infections urinaires. Quoiqu'il en soit, selon JANIS (67) et MILNER (85) ils participent pour environ 1 %. La

AUTEURS	PAYS	REFERENCES	ANNEE
BERGER	Angleterre	(6)	1945
BROWN	Australie	(13)	1952
BUTTIAUX	France	(19)	1954
CHAKRABARTY	Inde (Uttar-Pradesh)	27	1963
COSTA	Brésil (Rio de Janeiro)	(36)	1956
DE SALLES GOMES L.	Brésil	44	1944
DUCLOUX	Afrique	46	1966
EWING	Egypte	55	1947
FAUCON	Cameroun (Douala)	59	1965
GALTON	Etats-Unis (Floride)	63	1947
HUET	Tunisie	66	1957
KOHLER	Etats-Unis	73	1970
PLASS	Etats-Unis	102	1947
PRAKASH	Inde	103	1966
PREMA BHAT	Inde (Vellore)	105-106	1971
RAVISSE	Afrique (Bazzaville)	112	1960
SACHS	Inde et Egypte	118	1943
SEFCOVICOVA	U.R.S.S.	120	1958
SEN	Nigeria (Ibadan)	121	1962
SENECAL	Afrique-Dakar	123	1959
SINGER - BAR CHAY	Israël	126	1954
STENZEL	Allemagne	132-133	1961
STONE	Etats-Unis	134	1946
STUART	Etats-Unis (Providence)	135	1943
THOMAS	Angleterre (Londres)		1956
TOMASSOFOVA	U.R.S.S.	137	1959
VAN OYE	Afrique (Kivu)	139	1954
VAN ROS	Congo-Léopoldville	142	1965
VARELA	Mexique	141	1955
WALDHAM	Etats-Unis (chez les veaux)	144	1969

fréquence d'isolement chez les patients atteints de maladies neurologiques est particulièrement grande (paraplégie, méningo-myélocèle, etc...). Nous l'avons nous-mêmes constatés par l'isolement fréquent de souches urinaires dans les pavillons de neurologie et les pavillons de personnes âgées (Hospices et Gériatrie). L'explication de cette observation mérite une attention particulière. En effet, il semble désormais acquis que la fréquence des infections urinaires est plus grande chez les femmes que chez les hommes, mais dans le cas d'infections urinaires à Providencia, il semble que cette fréquence s'inverse ? Ce qui s'explique par la fréquence des paraplégies chez les hommes, d'hypertrophie de la prostate, de désordres urinaires d'ordre congénital. Les interventions chirurgicales répétées et la pose de sondes ainsi que les traitements antibiotiques répétés sont une autre explication à la sélection de micro-organismes aussi résistants que les Providencia.

Ainsi à l'Hôpital de Grenoble, en dehors de souches isolées des pavillons de Réanimation ou de Neuro-Chirurgie, les souches isolées d'urines le furent pour la majeure partie des pavillons de Neurologie et des pavillons de Gériatrie (Pavillon C, Berey, Gérin et Chatin).

Certaines souches sont plus virulentes que d'autres (selon JANIS (67) par expérimentation sur l'animal et SOLBERG (131), inoculation à la souris). Les souches isolées par hémocultures sont en général plus virulentes que celles isolées d'infections urinaires.

En dehors des infections urinaires, ces souches ne semblent pas jouer un grand rôle selon certains auteurs, dans le domaine infectieux ; le rôle dans les affections respiratoires est incertain selon FIELDS (60), par suite de la rareté de l'isolement dans les crachats, tout comme dans les gastro-entérites en général (EWING (54), VAN ROS (140)). Ils sont rarement isolés de plaies opératoires et de très rares cas de septicémies et septico-pyohémie ont été signalés (CHIU (28), VIC DUPONT (142), JANIS (67)) parmi les statistiques les plus importantes.

Mais dans le domaine de la réanimation instrumentale, le Providencia semble jouer un rôle particulier, ainsi que l'ont signalé CURRERI et ses collaborateurs.

III. LA PART DE PROVIDENCIA DANS LES CONTAMINATIONS CHEZ LES MALADES EN REANIMATION ARTIFICIELLE

La plupart de nos souches furent isolées des pavillons où les malades sont soumis à une réanimation artificielle (Réanimation ou Neuro-Chirurgie) (environ 90% des souches).

Nous pouvons même signaler que toutes les souches lyonnaises furent isolées du pavillon de Réanimation à l'exclusion de tous les autres pavillons pendant une période de un an, ce qui est remarquable et démonstratif. Dans ce domaine de l'hospitalisme, beaucoup plus rares sont les études faites. Elles intéressent les pavillons de Réanimation et les Centres de Brûlés. Nous avons déjà signalé la part de ces germes au Centre des Brûlés de Houston. Les travaux de DUCROUX-HUIN (47) sur l'importance de l'hémoculture chez les brûlés, situent les pourcentages de germes isolés. Nous mentionnons un tableau du pourcentage de souches de Providencia rencontrées dans les prélèvements effectués au niveau des zones brûlées.

Providencia	1965	1966	1967	1968	1969	1970
(%)	0,3	15,1	9,4	27,6	13	22,9

Le groupe Providence vient au troisième rang après le staphylocoque et le pyocyanique. Il est retrouvé dans 10 % des hémocultures, mais ces septicémies entraînent 100 % de mortalité. MONSALLIER (89) dans une étude sur les bactéries de l'hospitalisme et les flores de surinfection isole deux fois plus de Providence entre 1968 (5 souches) et 1970 (9 souches).

Les souches proviennent donc des pavillons de Réanimation. Ces malades supportent en général des sondes urinaires, des cathéters endoveineux, des canules de trachéotomie, etc... ce qui explique sans doute le grand nombre de souches isolées en un laps de temps relativement

court. En effet, en raison de leur longue hospitalisation (position allongée) et du traitement mécanique, ces malades sont très susceptibles aux infections et dans de nombreux cas, l'usage abusif et intensif des traitements antibiotiques favorisent la sélection des germes les plus résistants comme les Providencia (souvent d'ailleurs ces germes sont associés à d'autres espèces résistantes comme le pyocyanique ou les Moraxella en particulier du groupe II).

IV. DISCUSSION - CONCLUSION

Elle débouche sur la surveillance bactériologique d'un malade soumis à une réanimation artificielle. D'après les résultats et la discussion qui précédent, il apparaît que :

1° Le sous-groupe Providencia stuartii est isolé avec une fréquence accrue chez de tels malades.

2° Ce sous-groupe détermine dans un hôpital une infection continue avec de petits foyers épidémiques localisés.

3° Un malade peut présenter une infection multiple à biotypes différents et, selon la localisation, les biotypes peuvent présenter des antibiotypes différents. Ainsi, se trouve posé le problème du "biotope" milieu où évolue le biotype.

La surveillance bactériologique d'un malade devrait comporter :

1° Une étude de la flore bactériologique à l'admission dans le centre de réanimation permettant de réaliser des cartes bactériologiques qui servent d'éléments de comparaison.

2° Une étude de l'évolution de cette flore par des prélèvements systématiques au cours du traitement (au moins tous les 2 jours et si possible journellement) non seulement du foyer d'infection (trachéal ou urinaire), mais également de tous les foyers susceptibles d'être contaminés (urines, bronches, pus d'une plaie infectée et hémoculture).

Ces différents prélèvements doivent être traités de la même ma-

nière (étude biochimique très complète, réalisation de l'antibiogramme, si possible sur la même colonie qui a servi à l'identification biochimique). Nous conservons toutes les souches pour une étude lysotypique ultérieure, cette étude lysotypique étant la méthode de référence lorsqu'on étudie des marqueurs épidémiologiques.

Une telle surveillance est rendue possible en particulier pour les entérobactéries par l'utilisation de microméthodes normalisées nouvelles (API Enterobacteriaceae, par exemple) qui compte un nombre suffisant de caractères pour étudier les variétés des espèces.

C'est à ce prix (étude biochimique antibiotique et lysotypie sur une seule colonie) que l'on pourra repérer la contamination même mineure (présence d'une ou deux colonies suspectes dans une uroculture) d'espèces réputées dangereuses (Providencia, Klebsiella, Enterobacter cloacae, Serratia, etc...).

V. EXEMPLE DE SURVEILLANCE BACTERIOLOGIQUE AU LABORATOIRE

A l'admission dans le service de Réanimation d'un polytraumatisé mis sous réanimation artificielle, nous recevons au laboratoire des prélèvements des selles, du rhinopharynx, des sécrétions bronchiques, des urines et d'hémocultures. On isole de ces différents prélèvements toutes les espèces réputées pathogènes même si leur présence au temps zéro de la surveillance n'a pas de signification pathologique. En effet, ce type de malade est en danger vis à vis d'une espèce bactérienne "hospitalière" (Entérobactéries, Pseudomonas, Moraxella, Staphylocoques).

Les selles : on effectue un simple isolement pour avoir une idée de la flore fécale au moment du prélèvement. En effet, cet isolement n'est que le reflet d'un état de la flore à un moment donné, et on sait que la flore digestive est soumise à de nombreuses variations. Néanmoins, ce prélèvement de selles constitue un point de comparaison non négligeable pour suivre l'évolution ultérieure de la flore fécale et en particulier surveiller la disparition de tous les biotypes sensibles au profit des biotypes les plus résistants.

Le rhinopharynx : on rencontre rarement des Entérobactéries à ce niveau. Si on en rencontre, on procède à une identification avec conservation de la souche.

On procède de la même manière à partir des *sécrétions bronchiques* généralement stériles à l'admission, des *urines*, de *l'hémoculture*.

A partir de l'intervention(chirurgicale ou pose d'une sonde de trachéotomie) nous recevons régulièrement des prélèvements (les plus importants sont les sécrétions bronchiques, les urines, l'hémoculture et les selles) ; toutes les souches sont alors identifiées de façon très complète. Ceci permet :

1° de noter l'évolution du spectre antibiotique pour chaque espèce.

2° de noter l'apparition de biotypes résistants, comme Providencia stuartii, qui apparaît rarement d'emblée, mais fait l'objet d'une colonisation secondaire.

3° de noter l'antibiotype dans chaque localisation.

Dans tous les cas, le laboratoire de bactériologie doit signaler l'apparition d'un biotype multirésistant même en faible quantité qui émerge au dépens des autres. Le thérapeute doit comprendre la nécessité des prélèvements systématiques et indiquer au bactériologiste dans quelle optique ces prélèvements sont faits.

Ainsi, une seule colonie de Providencia stuartii apparaissant dans une uroculture et présentant une résistance aux antibiotiques plus grande que celle des résultats précédents doit être signalée au médecin rapidement, car cette souche peut ultérieurement être le témoin d'une surinfection. Ainsi, par une liaison étroite avec le clinicien, l'homme de laboratoire pourra alors dans les autres prélèvements s'efforcer de trouver le même germe. Ce qui est vrai pour les Providencia l'est aussi pour tous les autres germes. Toutes les souches isolées sont conservées pour une enquête épidémiologique par lysotypie.

CONCLUSIONS

Le genre Providencia comporte deux sous-groupes :

- Providencia alcalifaciens
- Providencia stuartii

jugés autrefois comme saprophytes ou n'engendrant que des processus pathologiques mineurs.

Ce genre a pris ces dernières années une importance telle qu'il apparaît comme particulièrement dangereux dans l'infection hospitalière.

Nous avons étudié 160 souches de Providencia provenant d'une quarantaine de malades hospitalisés surtout dans les services de Réanimation. L'étude de ces souches (isolées de divers produits pathologiques, excepté les selles) par des méthodes biochimiques, lysotypiques et l'étude du spectre antibiotique nous a permis de faire un certain nombre de constatations.

1) En utilisant un matériel normalisé (système API) pour la caractérisation des propriétés biochimiques, nous n'avons trouvé qu'un seul sous-groupe, à savoir Providencia stuartii. Cela tient en partie à la nature des prélèvements étudiés.

La recherche des nitrate-réductases A et B démontre que ce sous-groupe comporte deux biotypes en fonction de la présence ou de l'absence de l'un ou l'autre de ces enzymes. De plus, l'étude de l'attaque des glucides permet de décrire les biotypes 5 et 6 d'EWING.

2) L'étude lysotypique a permis d'isoler 24 lysotypes différents. En général, chaque malade héberge un lysotype particulier ; mais quelques malades peuvent héberger plusieurs lysotypes différents, ce qui re-

joint l'une des conclusions de l'étude biochimique, à savoir que certains ont été trouvés porteurs de biotypes différents en des localisations différentes (urines - bronches).

3) L'étude du spectre antibiotique prouve le niveau élevé de la résistance aux antibiotiques de ces germes, fait déjà signalé par de nombreux auteurs.

En outre, chez un même malade, en plus de la présence de plusieurs biotypes, l'antibiotype peut évoluer au cours de la thérapeutique et les sensibilités aux antibiotiques ne sont pas les mêmes que celles décrites quelques années auparavant. Cette évolution se fait dans le sens d'une résistance encore plus grande.

4) Providencia stuartii en dehors de son rôle, connu depuis longtemps, dans les gastro-entérites et les infections urinaires, apparaît aussi aujourd'hui comme une bactérie dangereuse dans les services de Brûlés et de Réanimation, où ce germe provoque des abcès pulmonaires et des septicémies. Il fait donc partie des microbes responsables de l'infection hospitalière.

Ces différentes constatations nous amènent à proposer un schéma simple de surveillance biochimique, antibiotique et lysotypique réalisable en milieu hospitalier sur des malades soumis à une réanimation instrumentale. Des prélèvements répétés, presque quotidiens, dans toutes les localisations infectées ou non, permettront, grâce à un contact étroit entre le bactériologiste et le clinicien, de détecter la souche contaminante. Celle-ci, caractérisée en général par sa résistance aux antibiotiques plus grande que celles des autres souches contaminantes, doit alors être recherchée dans les autres localisations infectées ou non. La mise en oeuvre de prélèvements systématiques et répétés, couplée à une étude complète des souches isolées permettra sans nul doute de mieux connaître les mécanismes intimes de l'infection hospitalière, en particulier l'infection à Providencia stuartii.

Vu et permis d'imprimer

Le Président de l'Université I
M. SOUTIF

Le Président du Jury
A. BOUCHERLE.

B I B L I O G R A P H I E

1. ACAR J.F.

Observations sur la population bactérienne cutanée d'un malade placé en environnement stérile.
Bull. Ass. Fr. Rech. Physiol. Pathol. cutanée, 1970, *1*, 27-34.

2. BARBE J.

Organisation méthodique de l'étude des caractères enzymatiques des bactéries de la tribu des Klebsiellae : application à la classification.
Thèse d'Etat de Pharmacie, Marseille, 1969.

3. BARTOLI M., CHOUTEAU J., ETTORI D., BONNET D. et PAYEN G.

Utilisation en pratique journalière d'une nouvelle galerie d'identification des Enterobactéries. A propos de 671 souches.
Lyon Pharm., 1972, *23*, 269-275.

4. BAUDENS J.G. et CHABBERT Y.A.

Analyse des facteurs de résistance transférable isolés en France.
Ann. Inst. Pasteur, 1967, *112*, 565-580.

5. BEN HAMIDA F. et LE MINOR L.

Une méthode rapide de recherche de la transformation de la l-phénylalanine en acide phénylpyruvique.
Ann. Inst. Pasteur, 1956, *90*, 671-673.

6. BERGER F.M.

A new mannite fermenting dysentery organism of the Flexner group.
J. Hyg. (Lond.), 1945, *44*, 116-119.

7. BERGOGNE E., PIECHAUD M., VIEU J.F., ZECHOVSKY N. et BORDINI A.

L'infection hospitalière à Moraxella.
Ann. Méd. Intern., 1970, *121*, 1009-1026.

8. BEUMER J., COTTON E., DELMOTTE A., MILLET M., VON GRÜNIGEN W. et YOURASSOWKY E.

Ampleur des modifications du lysotype provoqués par la lyophilisation chez des souches de Pseudomonas aeruginosa.
Ann. Inst. Pasteur, 1972, *122*, 415-423.

9. BREED R.S., MURRAY E.G.D. et SMITH N.R.

Bergey's Manual of determinative Bacteriology. 7ème édition, Baltimore, 1957, 367-368.

10. BRIDGES R. et TAYLOR J.

A critical examination of the organism described as Bacillus wakefield.
J. Hyg., 1946, *44*, 346-347.

11. BRISOU J.

Quelques acquisitions récentes sur les Entérobactéries. III. Providence.
Biol. Méd. (Paris), 1954, *43*, 63-64.

12. BROOKE M.S.

Biochemical investigations on certain urinary strains of Enterobacteriaceae : (1) B. cloacae, (2) Providence.
Acta Path. Microbiol. Scand., 1951, *29*, 1-8.

13. BROWN G.W.

Anaerogenic paracolon bacilli associated with gastro-enteritis in children.
Med. J. Aust., 1972, *2*, 658-664.

14. BRÜHL P. et MULLER U.

Harnwegsinfektionen durch den Erreger "Providencia" als Hospitalien sierungsfolge.
Munch. med. Wschr., 1966, *108*, 467-469.

15. BRÜHL P. et MULLER E.

Cefalothin : Antibakterielle Aktivität bei uropathogen Providencia stämmen.
Arzneimittel Forsch., 1966, *16*, 1221-1222.

16. BUSSIERE J.

Perfectionnement du tube d'Ivan Hall pour l'étude en série de la croissance et de la physiologie des bactéries.
C. R. Acad. Sc. Paris, 1972, *274*, 1426-1429.

17. BUISSIERE J. et NARDON P.

Microméthode d'identification des bactéries. Intérêt de la quantification des caractères biochimiques.
Ann. Inst. Pasteur, 1968, *115*, 218-231.

18. BUTTIAUX R., BEERENS H. et TACQUET A.

Manuel de techniques bactériologiques. 3ème édition, Flammarion, Paris, 1969, 316-317.

19. BUTTIAUX R.

Les entérobactéries pathogènes "mineures" dans les diarrhées subaiguës ou chroniques.
Acta Gastro-ent. Belg., 1954, *4*, 5, 409-425.

20. BUTTIAUX R., OSTEUX R., FRESNOY R. et MORIAMEZ J.

Les propriétés biochimiques caractéristiques du genre Proteus. Inclusion souhaitable des Providencia dans celui-ci.
Ann. Inst. Pasteur, 1954, *87*, 375-386.

21. BUTTIAUX R., FRESNOY R. et MORIAMEZ J.

Les caractères biochimiques du genre Providencia.
Ann. Inst. Pasteur de Lille, 1953-54, *6*, 62-79.

22. BUTTIAUX R., TACQUET A. et KESTELOOT A.

Sur l'action pathogène pour l'homme des bacilles paracoli.
Arch. Mal. Appar. dig., 1949, *38*, 1016-1021.

23. CARLQUIST P.R.

A biochemical test for separating paracolon group.
J. Bact., 1956, *71*, 339-341.

24. CARPENTER K.P.

The Proteus-Providence Group.
Recent advances in clinical pathology, 1964, *4*, 13-24.

25. CATSARAS M., ANTONIEWSKI J. et BUTTIAUX R.

Sur la production de colonies à centre orangé par Providencia et Proteus rettgeri sur gélose au desoxycholate citrate lactose.
Ann. Inst. Pasteur de Lille, 1965, *16*, 99-101.

26. CHABBERT Y.A.

L'antibiogramme. Sensibilité et résistance des bactéries aux antibiotiques. Ed. de la Tourelle, St Mandé (France), 1963.

27. CHAKRABARTY A.N., GUPTA N.P., GUPTA S.P. et GOVIL K.K.

Observations on Rettgerella and Providencia isolated from cases of acute gastroenteritis in Uttar-Pradesh.
Indian J. med. Res., 1963, *51*, 831-838.

28. CHIU W.S.W. et HOEPRICH P.D.

Susceptibility of "Proteus" and "Providence" bacilli to 10 antibacterial agents.
Am. J. Med. Sci., 1961, *241*, 309-321.

29. CHRISTENSEN W.B.

Urea decomposition as a means of differentiating Proteus and paracolon cultures from each other and from salmonella and shigella types.
J. Bact., 1946, *52*, 461-466.

30. CHRISTOL D., BURE A.M., BOUSSOUGANT Y. et WITCHITZ J.L.

Evolution de la résistance à la gentamycine.
Presse Méd., 1971, *79*, 467-470.

31. CLARKE P.H. et SHAW C.

Biochemical tests for Proteus and Providence cultures.
J. Gen. Microbiol., 10 PI 1954.

32. COETZEE J.N.

Transmission of colicinogeny to Providence strains.
Nature, 1964, *203*, 897-898.

33. COETZEE J.N., SMIT J.A. et PROZESKY O.N.

Properties of Providence and Proteus morganii transducing phages.
J. Gen. Microbiol., 1966, *44*, 167-176.

34. COETZEE J.N.

Lysogeny in Providencia strains and the host-range of Providencia bacteriophages.
Nature, 1963, *197*, 515-516.

35. COETZEE J.N.

Bacteriocinogeny in strains of "Providence" and "Proteus morganii".
Nature, 1967, *213*, 614-616.

36. COSTA G.A. et SASSUANA I.

Sobre a occurencia de bacilos "paracoli" no Rio de Janeiro.
Ann. Microbiol., 1956, *3*, 107-116.

37. COWAN S.T.

Taxonomic range of Enterobacteriaceae group.
J. Gen. Microbiol., 1956, *15*, 345-358.

38. CURRERI M.C. et coll.

Providencia stuartii sepsis : A new Challenge in the treatment of thermal injury.
American Burn Association Fourth - Annual Meeting - San Francisco - 1972, *4*, 7-8.

39. DAMMRON A.

Enquête en milieu hospitalier sur la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à gram négatif, agents d'infections urinaires et entériques.
Path. Biol., 1969, *17*, 833-838.

40. DE LUCA G. et LAMEDICA G.H.

Su di an caso di meningite purulenta neo-natale da Proteus inconstans
Lattante, 1959, *30*, 660-667.

41. DE MEIRLEIRE-BEROLOY

Importance en clinique du transfert de résistance aux antibiotiques. Application à la flore bactérienne des ulcères chroniques de jambe.
Thèse de Médecine, Besançon, 1970, n° 80.

42. DE MEUTER F.

Souche de Providencia ayant l'antigène O,50 des Salmonella.
Ann. Soc. Belge Méd. trop., 1967, *47*, 295-300.

43. DAVIS B.R. et EWING W.H.

Lipolytic, pectolytic and alginolytic activities of Enterobacteriaceae.
J. Bact., 1964, *88*, 16-19.

44. DE SALLES GOMES L.

Sôbre una nova espece do gênero Eberthella Buchanan, isolada de fezes pacologines de criança : Eberthella alcalifaciens (n.sp.)
Rev. Inst. A. Lutz (S. Paulo), 1944, *4*, 182-195.

45. DOBREY R.

A hospital study of the Providence Group.
Canad. J. med. Technol., 1971, *33*, 5, 177-187.

46. DUCLOUX M. et FAUCON R.

Entéropathies à "Providencia" observées en milieu africain.
Méd. Afr. Noire, 1966, *13*, 209-211.

47. DUCROUX-HUIN

L'hémoculture chez les brûlés.
Thèse de médecine, Lille, 1972.

48. DUMAS J. et les Chefs de Service de l'INSTITUT PASTEUR.

Bactériologie médicale. Flammarion, Paris, mise à jour 1959, 401-401 b

49. DUVAL J., GAUDIN H. et LE BOUARY

Enquête sur le danger actuel des bacilles gram négatif multirésistant
Path. Biol., 1967, *15*, 1217-1222.

50. DUVAL J. et coll.

Niveau et évolution de la résistance des bacilles à gram négatif.
Path. Biol., 1969, *17*, 825-831.

51. EDWARDS P.R. et EWING W.H.

The proteus and Providence Groups. In : Identification of Enterobacteriaceae. Burgess Publishing Company, Minneapolis 15, Minnesota, U.S.A., 1962, 227-344.

52. EWING W.H.

The nomenclature and taxonomy of the Proteus and Providence Group.
Int. Bull. Bact. Nomencl. Tax., 1958, *8*, 17-23.

53. EWING W.H.

The tribe "Proteae" its nomenclature and taxonomy.
Int. Bull. Bact. Nomencl. Tax., 1962, *12*, 93-102.

54. EWING W.H., TANNER K. et DENNARD D.

The providence Group : an intermediate group of enteric bacteria.
J. Inf. Dis., 1954, *94*, 134-140.

55. EWING W.H. et GRAVATTI J.L.

Shigella types encountered in the Mediterranean area.
J. Bact., 1947, *53*, 191-195.

56. EWING W.H.

An outline of Nomenclature for the family Enterobacteriaceae.
Int. Bull. Bact. Nomencl. Tax., 1963, *13*, 95-110.

57. EWING W.H. et EDWARDS P.R.

The principal divisions and groups of Enterobacteriaceae and their differentiation.
Int. Bull. Bact. Nomencl. Tax., 1960, *10*, 1-12.

58. FALKOW S., RYMAN I.R. et WASHINGTON O.

Desoxyribonucleic acid base composition of Proteus and Providence organisms.
J. Bact., 1962, *83*, 1318-1321.

59. FAUCON R., DUCLOUX M., RICOSSE J.H. et GHIPPONI P.

Entéropathies à "Providencia" observées en milieu Africain à Douala (Cameroun).
Méd. Trop., 1965, *25*, 583-602.

60. FIELDS B., UWAYDAH M., KUNZ L. et SWARTZ M.

The so called "Paracolon bacteria". A bacteriologic and clinical study.
Am. J. Med., 1967, *42*, 89-92.

61. FOUGERAT J., BUISSIERE J. et LANNECHE J.

Application d'une microméthode à l'étude de l'acidification des milieux avec glucides par les mycobactéries à croissance rapide.
Rev. Inst. Pasteur de Lyon, 1971, *4*, 215-223.

62. FULTON M.

The identity of "Bacterium columbensis" (Castellani).
J. Bact., 1943, *46*, 79-82.

63. GALTON M.M., HESS M.E. et COLLINS P.

The isolation and distribution in Florida of an anaerogenic paracolon type 29911.
J. Bact., 1947, *53*, 649-651.

64. HENRIKSEN S.D.

A comparison of the phenylpyruvic acid reaction and the urease test in the differentiation of Proteus from other enteric organism.
J. Bact., 1950, *60*, 225-231.

65. HUET M.

Résultats des coprocultures chez 400 enfants diarrhéiques pendant la période estivale en Tunisie.
Arch. Inst. Pasteur de Tunis, 1957, *34*, 233-243.

66. JACQ J. et BUSSIERE J.

Etude d'un modèle destiné à l'élaboration d'un système d'identification des bactéries.
Journée d'Etude sur la Taxonomie - *Société Française de Biométrie*, 27.4.1970.

67. JANIS B., EVANS R.G. et HOEPRICH P.D.

Providencia bacillus bacteriemia and septicopyemia.
Am. J. Med., 1968, *45*, 943-947.

68. KANAZAWA Y. et KURAMATA T.

Antagonistic effect between nalidixic acid and certains nitrofurans against the Proteus-Providence group.
Jap. J. Bact., 1966, *21*, 4, 210-216.

69. KAUFFMANN F.

Enterobacteriaceae. Copenhague, Munksgaard, 1ème édition, 1951.

70. KAUFFMANN F.

Enterobacteriaceae. Copenhague, Munksgaard, 2ème édition, 1954.

71. KAUFFMANN F.

On biochemical investigations of Enterobacteriaceae.
Acta Path. Microbiol. Scand., 1956, *39*, 81-93.

72. KOCWA E.

The fermentation ability of "paracolon bacilli".
Arch. Immunol. Therp. exp., 1964, *12*, 332-337.

73. KOHLER H. et KITE P.

Neonatal enteritis due to a Providence organism.
Arch. dis. Childr., 1970, *45*, 243, 709.

74. LECLERC H. et CATSARAS M.

Etude de la décarboxylase de l'acide glutamique dans le groupe "Proteus-Providence".
Ann. Inst. Pasteur, 1968, *114*, 421-424.

75. LE MINOR L.

Le diagnostic de laboratoire des Entérobactéries. Ed. de la Tourelle, St Mandé, 3ème édition.

76. LE MINOR L.

Les entérites microbiennes. Etat actuel de nos connaissances sur leur étiologie. Perspectives d'avenir.
Rev. Fr. Etudes clin. et biol., 1956, *1*, 346-354.

77. LE MINOR L. et PICHINOTY F.

Recherche de la tétrathionate-réductase chez les bactéries gram-négatives anaérobies facultatives (Enterobacteriaceae, Aeromonas et Pasteurella). Méthodes et valeur diagnostique.
Ann. Inst. Pasteur, 1963, *104*, 384-393.

78. LE MINOR L., CHIPPAUX M., PICHINOTY F., COYNAULT C. et PIECHAUD M.

Méthodes simples permettant de rechercher la tétrathionate-réductase en cultures liquides ou sur colonies isolées.
Ann. Inst. Pasteur, 1970, *119*, 733-737.

79. LE MINOR L., CHALON A.M. et VERON M.

Antigène commun des Entérobacteriaceae.
Ann. Inst. Pasteur, 1972, *123*, 761-774.

80. LUTZ A. et HOFFERER M.J.

Sur le degré de sensibilité et de résistance des bacilles des genres Proteus et Providencia à quelques antibiotiques.
Rev. Immunol. (Paris), 1955, *19*, 69-85.

81. MACHTIGER-NEAL A. et O'LEARY W.M.

Nutritional requirements of Arizona, Citrobacter and Providencia.
J. Bact., 1971, *108*, 948-950.

82. MAC LENNAN J.D.

The non mannitol fermenting dysenteri bacilli.
J. Path. Bact., 1945, *57*, 307-315.

83. MARPLES R.R. et KLIGMAN J.

Ecological effect of oral antibiotics on microflora of skin.
Arch. of Dermatology (U.S.A.), 1971, *103*, 148-153.

84. MIDDLETON J.E.

The sensitivity in vitro of the Providence group of enteric bacteria to 14 antibiotics and nitroferrantoïn.
J. Clin. Path., 1958, *11*, 270-272.

85. MILNER P.F.

The differentiation of Enterobacteriaceae infecting the urinary tract. A study of male paraplegics.
J. Clin. Path., 1963, *16*, 39-42.

86. MOELLER V.

Activity determination of amino-acid decarboxylases in Enterobacteriaceae.
Acta Path. Microbiol. Scand., 1954, *34*, 102-114.

87. MOELLER V.

Simplified tests for some amino-acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system.
Acta Path. Microbiol. Scand., 1955, *36*, 158-172.

88. MOELLER V.

Distribution of amino-acid decarboxylases in Enterobacteriaceae.
Acta Path. Microbiol. Scand., 1954, *35*, 259-277.

89. MONSALLIER J.F., NEVOT P. et ALLAIN-JOURDAIN M.F.

Etude de l'évolution de la sensibilité des bacilles gram négatif à la suite de l'utilisation prolongée et préférentielle de l'association Céfalotine-oligosaccharides dans un centre de Réanimation médicale polyvalente.
Symposium sur les céphalosporines, Paris, le 22 janvier 1971.

90. MONTO A.S. et RANTZ L.A.

Classification of so called Paracolon bacilli isolated from urinary tract infection.
J. Lab. Clin. Med., 1965, *65*, 64.

91. MÜNTER W.

Providencia stämme als Erreger von Harnwegsinfekten.
Acta Biol. med. Germ., 1968, *20*, 887-889.

92. NAMIOKA S. et SAKAZAKI R.

Etude sur les Rettgerella.
Ann. Inst. Pasteur, 1958, *94*, 485-499.

93. NAMIOKA S. et SAKAZAKI R.

New K. antigen (C antigen) possessed by "Proteus" ans "Rettgerella" cultures.
J. Bact., 1959, *78*, 301-306.

94. ORNSTEIN M.

Zur bakteriologie des Schmitz-bazillus.
Z. Hyg. Infekt. Kr., 1921, *91*, 152-178.

95. PAPAVASILLIOU J.

Identification et classification des genres (groupes) de la famille "Enterobacteriaceae".
Arch. Inst. Pasteur Hellen., 1957, *3*, 33-51.

96. PAULE R.

Contribution à l'étude biochimique du genre Lactobacillus par une méthode normalisée.
Thèse d'Etat Médecine, Lyon, 1971.

97. PERCH B.

Sensitivity of Proteus and Providencia to eight antibiotics and sulfathiazole.
Acta Path. Microbiol. Scand., 1954, *35*, 278-286.

98. PICHINOTY F. et PIECHAUD M.

Recherche des nitrate-réductases A et B : Méthodes.
Ann. Inst. Pasteur, 1968, *114*, 77-98.

99. PICHINOTY F. et coll.

Recherche des nitrate-réductases A et B : Résultats.
Ann. Inst. Pasteur, 1969, *116*, 27-42.

100. PICHINOTY F.

Etude et mise au point de deux méthodes permettant de mesurer l'activité des nitrate-réductases bactériennes.
Ann. Inst. Pasteur, 1963, *104*, 219-237.

101. PICHINOTY F. et coll.

Recherche des nitrate-réductases chez les Entérobactéries.
Ann. Inst. Pasteur, 1966, *110*, 126-130.

102. PLASS H.

Outbreak of diarrhoeal disease associated with paracolon.
J. Lab. Clin. Med., 1947, *32*, 886-887.

103. PRAKASH O.M., DAVAL S. et KALRA S.L.

Bacterial aetiology of infantile diarrheoea in a village population with observations of some Providence strains isolated from diarrheoea and non-diarrheoea cases.
Indian J. Med. Res., 1966, *54*, 705-713.

104. PREMA BHAT, MYERS R.M., MALATHI JADHAV

Indirect haemagglutination tests in assessing the aetiologic role of certain suspect enterobacteria in diarrhoeal diseases of preschool children.
Indian J. Med. Res., 1971, *59*, 515-525.

105. PREMA BHAT, SHANTHAKUMARI S. et MYERS R.M.

The Providence-group subgroup including biotypes and serogroups of faecal strains isolated in Vellore.
Indian J. Med. Res., 1971, *59*, 1184-1189.

106. PREMA BHAT, MYERS R.M. et FELDMAN R.A.

Providence group of organism in the aetiology of juvenile diarrhoea.
Indian J. Med. Res., 1971, *59*, 1010-1018.

107. PROOM H.

Amine production and nutrition in the Providence Group.
J. Gen. Microbiol., 1955, *13*, 173-174.

108. PROOM H. et WOIWOOD A.J.

The distribution of glutamic acid decarboxylase in the family Enterobacteriaceae.
J. Gen. Microbiol., 1951, *5*, 681-686.

109. PROOM H. et WOIWOOD A.J.

Amine production in the Genus Proteus.
J. Gen. Microbiol., 1951, *5*, 930-938.

110. RAUSS K.

Minority report on the tribe Proteae.
Int. Bull. Bact. Nomencl., 1963, *13*, 95-110.

111. RAUSS K.

A proposal for the nomenclature and classification of the Proteus and Providence groups.
Int. Bull. Bact. Nomencl., 1962, *12*, 53-64.

112. RAVISSE P., SAGNET H., CLERGEAUD P. et DEME J.

Les entérobactéries pathogènes chez l'enfant à Brazzaville.
Bull. Soc. Path. Exot., 1960, *53*, 56-62.

113. RICHARD C.

Caractères biochimiques des biotypes de Providencia ; leurs rapports avec le genre Rettgerella.
Ann. Inst. Pasteur, 1966, *110*, 105-114.

114. ROLAND F., BOURBON D. et SZTRUM S.

Différenciation des Entérobactéries sans action sur la lactose.
Ann. Inst. Pasteur, 1947, *73*, 914-916.

115. RUGAL E. et RUGAL R.T.

Grupo "Providencia" prevalencia dos biogrupos em Sao Paulo, Brasil.
Rev. Inst. A. Lutz, 1964, *24*, 27-28.

116. RUGAL E. et RUGAL R.T.

Culture medium for differentiation of "Proteus" and "Providencia" groups from other enterobacteria by the l-tryptophane desaminase.
Rev. Inst. A. Lutz (S. Paulo), 1964, *24*, 29-31.

117. RUSTIGIAN R. et STUART C.

The biochemical and serological relationships of the organisms of the genus Proteus.
J. Bact., 1945, *49*, 419-436.

118. SACHS A.

A report of an investigation into the characteristics of new types of non mannitol fermenting bacilli isolated from cases of bacillary dysentery in India and Egypt.
J. Roy. Army Med., Cps., 1943, *80*, 92-99.

119. SCHMIDT E.E. et VELAUDAPILLAI A.

A providence organism related to S. milwaukee.
Jap. J. Med. Sci. Biol., 1954, *7*, 169.

120. SEFCOVICOVA L.

Kotazke vyskyty kmenov Providencia u. dojciat (Incidence des Providencia dans les diarrhées de l'enfant).
C.S.L. Epidem., 1958, *7*, 3, 197-201.

121. SEN R.

Isolation of strains of the Providence group from cases with diarrhoea in Ibadan, Nigeria.
Indian J. Med. Res., 1962, *50*, 622-626.

122. SEN R.

Some observations on the biochemical characters of the "Providence" group of the family "Enterobacteriaceae" isolated in Ibadan, Nigeria.
Indian J. Med. Res., 1962, *50*, 627-629.

123. SENECAL J.

Les diarrhées infantiles en Afrique Occidentale Française.
Bull. Org. Mond. Santé, 1959, *21*, 321-336.

124. SERENY B.

Breakdown of amino-acids by "Enterobacteriaceae". III. Characteristics colour reactions in the "Proteus-Providencia" group.
Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung., 1964-65, *11*, 237-249.

125. SHAW C. et CLARKE P.H.

Biochemical classification of Proteus and Providence cultures.
J. Gen. Microbiol., 1955, *13*, 155-161.

126. SINGER J. et BAR-CHAY J.

Biochemical investigations of Providence strains and their relationship to the Proteus group.
J. Hyg., 1954, *52*, 1-8.

127. SINGER J. et VOLCANI B.E.

An improved ferric chloride test for differentiating Proteus-Providencia group from other Enterobacteriaceae.
J. Bact., 1955, *69*, 303-306.

128. SINGER J., BAR-CHAY J. et MOENIGSBERG R.

The intestinal flora in the etiology of infantile infections diarrhoea.
Amer. J. Dis. Childr., 1955, *89*, 531-538.

129. SMIT J.A. et COETZEE J.N.

Serological specificities of phenylalanine desaminases of the "Proteus-Providence group".
Nature, 1967, *214*, 1238-1239.

130. SMIT J.A.

Specific activity of phenylalanine desaminase in extracts of the "Proteus-Providence" group.
Nature, 1966, *211*, 1003.

131. SOLBERG O. et MATSEN J.H.

Infections with Providence bacilli.
Am. J. Med. (U.S.A.), 1971, *50*, 241-246.

132. STENZEL W.

Proteus inconstans O_{13} H_{30} als enteritiserreger bei Kleinkindern.
Zbl. Bakt. I. Abt. Orig., 1961, *182*, 178-183.

133. STENZEL W.

Die Saisonale Periodik der Verkommeus - käufigkeit von Proteus inconstans in stuhl.
Z. Hyg. Infekt., 1962, *149*, 32-34.

134. STONE D.H.

An outbreak of gastro-enteritis apparently due to an unusual organism of the dysentery group.
Hth. Bull. Minist. Hlth. Labo. Serv., 1946, *5*, 139-145.

135. STUART C., WHEELER K. et McGANN V.

Further studies on one anaerogenic paracolon organism, type 29911.
J. Bact., 1946, *52*, 431-438.

136. STUART C., WHEELER K., RUSTIGIAN R. et ZIMMERMANN A.

Biochemical and antigenic relationship of the paracolon bacteria.
J. Bact., 1943, *45*, 101-119.

137. TOMASOFFOVA A.

Prispevck k. taxonomii a chologii skupiny Proteus-Providencia.
(Une note sur la taxonomie et l'écologie du groupe Proteus-Providenci
Acta Univ. Caralinae, 1959, *7*, 477-504.

138. VAN OYE E.

Contribution à la connaissance des Entérobactéries du groupe Providence basée sur l'étude de 200 souches isolées au Kivu.
Mém. Acad. Royale de Belgique, 1961, *12*, 3-60.

139. VAN OYE E. et SCHOETTER M.

Les bacilles du groupe Providence, facteurs étiologiques de syndromes de dysenterie.
Ann. Soc. Belg. Méd. Trop., 1954, *34*, 999-1007.

140. VAN ROS G.

Les "Providencia" entérobactéries réputées potentiellement pathogènes et cas étudiés au Congo-Léopoldville.
Bull. Soc. Path. Exot., 1965, *58*, 714-728.

141. VARELA G.

Germenes del genero Providencia de los serotipos 14y15.
Rev. Inst. Salubr. Enferm. trop., 1955, *15*, 229-231.

142. VIC DUPONT M.M., MONSALLIER J.F., RICHANT H. et VACHON F.

Etude étiologique, thérapeutique et évolutive de 26 cas d'infections sévères à bacilles gram négatif (22 septicémies et 4 méningites purulentes).
Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 1964, *115*, 693-700.

143. VIEU J.F.

Distribution de la lysogénie parmi les Proteus et les Providencia.
C. R. Acad. Sci. Fr., 1963, *256*, 20, 4317-4319.

144. WALDHALM D.G., HEINERSHAGEN W.A. et FRANK F.W.

"Providencia stuartii" as an etiologic agent in neonatal diarrhoea in calves.
Am. J. Vet. Res., 1969, *30*, 1573-1575.

145. WASHINGTON J.A., PAULINE K.W. et MARTIN W.J.

Evaluation of accuracy of micromethod system for identification of Enterobacteriaceae.
Applied Microbiol., 1971, *22*, 267-269.

146. WITCHITZ J.L. et CHABBERT Y.A.

Résistance transférable à la gentamycine. I. Expansion du caractère de résistance.
Ann. Inst. Pasteur, 1971, *121*, 733-742.

147. WITCHITZ J.L. et CHABBERT Y.A.

Résistance transférable à la gentamycine. II. Transmission et liaison du caractère de résistance.
Ann. Inst. Pasteur, 1972, *122*, 367-378.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION..... p. 2

CHAPITRE I : DEFINITION DU GENRE PROVIDENCIA

I. CARACTERISTIQUES ET REACTIONS BIOCHIMIQUES..... 11
II. STRUCTURE ANTIGENIQUE..... 14
A. Antigènes somatiques..... 14
B. Antigènes flagellaires H..... 16
C. Relations antigéniques croisées..... 16

CHAPITRE II : ETUDE BIOCHIMIQUE

I. MATERIEL ET METHODES..... 19
A. Les souches..... 19
B. Les méthodes classiques..... 20
C. Les microméthodes..... 21
II. RECHERCHE DES CARACTERES BIOCHIMIQUES..... 22
A. Diagnostic de routine sur API 20 Enterobacteriaceae.. 23
1. Principe..... 23
2. Résultats..... 23
B. Recherche des biotypes..... 24
1. Matériel et méthodes..... 24
2. Culture des souches..... 26
3. Recherche des nitrate-réductases par la méthode de PICHINOTY..... 26
4. Détermination des biotypes en milieu au $KClO_3$... 28
5. Lecture du métabolisme des glucides..... 31
C. Commentaires..... 36
D. Intérêt épidémiologique des biotypes..... 40

CHAPITRE III : LYSOTYPIE DE PROVIDENCIA STUARTII

I. INTERET DE LA RECHERCHE DES LYSOTYPES..... 44
II. PRINCIPE DE LA LYSOTYPIE..... 47
III. METHODES..... 47
1. Le milieu..... 47
2. Technique..... 48
IV. RESULTATS..... 51
1. Données générales..... 51
2. Lysotypes..... 51
3. Comparaison avec les résultats de la littérature..... 54
V. COMMENTAIRES..... 55
1. Les résultats de la lysotypie..... 55
2. Interprétation épidémiologique..... 56

CHAPITRE IV : ETUDE ANTIBIOTIQUE

I. MATERIEL ET METHODES..... 77
1. Technique utilisée..... 77
2. Lecture et interprétation des résultats..... 78
3. Substances utilisées..... 79
II. RESULTATS DE LA LITTERATURE..... 80
III. LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES..... 83
1. La résistance chromosomique..... 83
2. La résistance extra-chromosomique..... 84
3. Mise en évidence de la résistance transférable chez les Providencia..... 85
IV. RESULTATS PERSONNELS..... 86
V. CONCLUSION..... 94

CHAPITRE V : LE ROLE PATHOGENE DU GROUPE PROVIDENCE

I. ROLE DANS LES GASTRO-ENTERITES..... 96
II. RESPONSABILITE DES PROVIDENCIA EN DEHORS DES GASTRO-ENTERITES..... 97
III. LA PART DES PROVIDENCIA DANS LES CONTAMINATIONS CHEZ LES MALADES EN REANIMATION ARTIFICIELLE..... 100
IV. DISCUSSION - CONCLUSION..... 101
V. EXEMPLE DE SURVEILLANCE BACTERIOLOGIQUE AU LABORATOIRE.... 102

CONCLUSION..... 105

BIBLIOGRAPHIE..... 107